

18ª
edición

Traducida de la 23ª edición en inglés



Microbiología médica

de Jawetz, Melnick y Adelberg

Geo F. Brooks
Janet S. Butel
Stephen A. Morse



Manual Moderno

VISIT...

LANZAROTE
Caliente.COM

Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg

Geo. F. Brooks, MD

Professor of Laboratory Medicine,
Medicine, and Microbiology and Immunology
Chief, Microbiology Section
Clinical Laboratories
University of California San Francisco
San Francisco

Janet S. Butel, PhD

Distinguished Service Professor
Chair, Department of Molecular Virology and
Microbiology
Baylor College of Medicine
Houston

Stephen A. Morse, PhD

Associate Director for Science
Bioterrorism Preparedness and Response Program
National Center for Infectious Diseases
Centers for Disease Control and Prevention
Atlanta

Traducción puesta al día según la 23a ed. en inglés por:
Francisco Sánchez Frago

Editores responsables:

Dr. Martín Martínez Moreno
Editorial El Manual Moderno



Manual Moderno®

Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.
Av. Sonora 206 - 201 Col. Hipódromo, C.P. 06100 México D.F.

Editorial El Manual Moderno, (Colombia), Ltda.
Carrera 12-A No. 79-03/05 Bogotá, DC

Contenido

Prefacio	IX
----------------	----

SECCIÓN I FUNDAMENTOS DE MICROBIOLOGÍA

Capítulo 1. La ciencia de la microbiología	3
Capítulo 2. Estructura celular	9
Capítulo 3. Clasificación de las bacterias	41
Capítulo 4. Crecimiento, supervivencia y muerte de los microorganismos	51
Capítulo 5. Cultivo de microorganismos	61
Capítulo 6. Metabolismo microbiano	69
Capítulo 7. Genética microbiana	93

SECCIÓN II INMUNOLOGÍA

Capítulo 8. Inmunología	117
-------------------------------	-----

Roderick Nairn PhD

SECCIÓN III BACTERIOLOGÍA

Capítulo 9. Patogenia de la infección bacteriana	145
Capítulo 10. Quimioterapia antimicrobiana	159
Capítulo 11. Flora microbiana normal del cuerpo humano	193
Capítulo 12. Bacilos grampositivos formadores de esporas: especies de <i>Bacillus</i> y de <i>Clostridium</i>	199
Capítulo 13. Bacilos grampositivos no formadores de esporas: <i>Corynebacterium</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Listeria</i> , <i>Erysipelothrix</i> , <i>Actinomyces</i> y especies relacionadas	209
Capítulo 14. Estafilococos	219
Capítulo 15. Estreptococos	227

Capítulo 16. Bacilos entéricos gramnegativos (<i>enterobacteriaceae</i>)	243
Capítulo 17. Pseudomonas, acinetobacter y bacterias gramnegativas poco comunes	257
Capítulo 18. Vibriones, campilobacterias, helicobacterias y bacterias relacionadas	265
Capítulo 19. Haemophilus, Bordetella, Brucella y Francisella	275
Capítulo 20. Yersinia y Pasteurella	285
Capítulo 21. Neisserias	291
Capítulo 22. Infecciones causadas por bacterias anaerobias	301
Capítulo 23. Legionelas, bartonella y patógenos bacterianos poco frecuentes.....	307
Capítulo 24. Micobacterias	313
Capítulo 25. Espiroquetas y otros microorganismos espirales	325
Capítulo 26. Micoplasmas y bacterias con pared celular defectuosa	337
Capítulo 27. Rickettsias y ehrlichias	343
Capítulo 28. Clamidas	351

SECCIÓN IV VIROLOGÍA

Capítulo 29. Propiedades generales de los virus.....	363
Capítulo 30. Patogenia y control de enfermedades virales	389
Capítulo 31. Parvovirus	409
Capítulo 32. Adenovirus	415
Capítulo 33. Herpesvirus	425
Capítulo 34. Poxvirus	449
Capítulo 35. Virus de la hepatitis	463
Capítulo 36. Picornavirus (grupos enterovirus y rinovirus)	483
Capítulo 37. Reovirus, rotavirus y calicivirus	499
Capítulo 38. Enfermedades virales transmitidas por artrópodos y roedores	509
Capítulo 39. Ortomixovirus (virus de la influenza)	531
Capítulo 40. Paramixovirus y virus de la rubéola	545
Capítulo 41. Coronavirus	565
Capítulo 42. Rabia, infecciones por virus lentos y enfermedades por priones	571
Capítulo 43. Virus oncogénicos humanos	583
Capítulo 44. SIDA y lentivirus	601

SECCIÓN V MICOLOGÍA

Capítulo 45. Micología médica	621
-------------------------------------	-----

Thomas G. Mitchell, PhD

SECCIÓN VI
PARASITOLOGÍA

Capítulo 46. Parasitología médica	659
---	-----

Donald Heyneman, PhD

SECCIÓN VII
MICROBIOLOGÍA MÉDICA PARA DIAGNÓSTICO
Y CORRELACIÓN CLÍNICA

Capítulo 47. Principios del diagnóstico microbiológico en medicina	701
Capítulo 48. Correlación y casos clínicos	731
Índice	771

Prefacio

Los objetivos de la vigésimo tercera edición en inglés (decimotava edición en español) de *Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg* son los mismos de la primera edición publicada en septiembre de 1954: "...proporcionar una presentación breve, precisa y actualizada de los aspectos de la microbiología médica que son de importancia particular en las áreas de infecciones clínicas y quimioterapia". La edición actual refleja los avances notables que se han logrado desde ese entonces en el conocimiento de microbios y mecanismos moleculares de las enfermedades microbianas, así como en el desarrollo de técnicas modernas de laboratorio y de diagnóstico.

Se ha conservado la secuencia de los capítulos de ediciones recientes y la presentación básica del texto. Un cambio importante para esta edición ha sido la inclusión de

preguntas de repaso al estilo del *United States Medical Licensing Examination* (USMLE). Algunos de los que escribieron las preguntas ya tienen experiencia en la escritura de este tipo de interrogantes aunque otros no. Se aprendió que escribir preguntas claras con respuestas correctas simples no es tarea fácil. Se han aceptado algunas respuestas *incorrectas* simples por su importancia educacional.

El Dr. James Ransom editó la vigésimo tercera edición en inglés (decimotava edición en español) al igual que la primera edición y casi todas las intermedias. Agradecemos su ayuda por mantener la alta calidad, claridad y consistencia del texto. También queremos expresar nuestro aprecio a quienes con sus comentarios ayudaron a mantener precisas y actuales las revisiones de este libro.

Geo. F. Brooks

San Francisco

Marzo de 2004

Janet S. Butel

Houston

Stephen A. Morse

Atlanta

Sección I

Fundamentos de microbiología

La ciencia de la microbiología

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS ESCLARECIDOS POR LA MICROBIOLOGÍA

En ninguna parte es más notable la **diversidad biológica** como en los microorganismos; seres que no se perciben a simple vista. En forma y función, ya sea en una propiedad bioquímica o en un mecanismo genético, el análisis de los microorganismos nos lleva hasta los límites del conocimiento biológico. Por lo que la necesidad de **originalidad** —prueba del valor de una hipótesis científica— puede cumplirse cabalmente en la microbiología. Una hipótesis útil debe proporcionar una base para la **generalización**, y la diversidad microbiana ofrece un campo en el cual este reto está siempre presente.

La **predicción**, consecuencia práctica de la ciencia, es un producto creado por la mezcla de teoría y técnica. La **bioquímica**, la **biología molecular** y la **genética** suministran las herramientas requeridas para el análisis de los microorganismos. La **microbiología**, a su vez, amplía los horizontes de estas disciplinas científicas. Un biólogo podría describir esta interrelación como **mutualismo**; es decir, que beneficia a todos los individuos involucrados. Los líquenes constituyen un ejemplo de simbiosis microbiana. Están compuestos por un hongo y una pareja fototrófica, que puede ser un alga (eucarionte) o una cianobacteria (procarionte). El componente fototrófico es el productor principal, mientras que el hongo proporciona el fotótrofo con un sostén y protección de los elementos. En biología, el mutualismo se denomina **simbiosis**, una asociación continua de diferentes organismos. Si el intercambio opera principalmente para beneficio de uno de los individuos, se describe como **parasitismo**, una interrelación en la que el **huésped** otorga el beneficio principal al parásito. El aislamiento y la caracterización de un parásito; es decir, una bacteria patógena o un virus, a menudo requieren una imitación eficaz en el laboratorio del ambiente de crecimiento proporcionado por las células huésped. En ocasiones esta exigencia representa un gran desafío para el investigador.

Los términos "mutualismo", "simbiosis" y "parasitismo" se relacionan con la ciencia de la **ecología**, y los principios de la biología ambiental están implícitos en la microbiología. Los microorganismos son producto de la **evolución**, consecuencia biológica de la **selección natural** que

opera sobre un vasto ordenamiento de organismos genéticamente diversos. Es útil considerar la complejidad de la historia natural antes de generalizar acerca de los microorganismos, el subconjunto más heterogéneo de todos los seres vivos.

Una importante división biológica separa a las eucariontes (organismos que contienen un núcleo limitado por una membrana) de las procariontes, en los cuales el DNA no está físicamente separado del citoplasma. En los párrafos siguientes, y también en el capítulo 2, se pueden encontrar más diferencias entre ambos tipos de organismos. Las primeras, por ejemplo, se diferencian por su tamaño relativamente grande y por la presencia de organelos membranosos especializados, como la mitocondria.

Como se describe líneas abajo de manera más completa, los microorganismos eucariontes —o **eucaria**, desde el punto de vista filogenético—, están unidos por su bien diferenciada estructura celular e historia filogenética. Entre los grupos de microorganismos eucariontes se encuentran las **algas**, los **protozoarios**, los **hongos** y los **mohos del cieno**.

Las propiedades únicas de los virus los colocan en un lugar aparte de las criaturas vivientes. Las eucariontes y procariontes son organismos porque contienen todas las enzimas requeridas para su replicación y poseen el equipo biológico necesario para la producción de energía metabólica. Por tanto, ello las distingue de los **virus**, ya que éstos dependen de la célula huésped para realizar estas funciones esenciales.

VIRUS

Los virus carecen de muchos de los atributos de las células, incluso de su capacidad para reproducirse. Sólo cuando el virus infecta una célula, éste adquiere el principal atributo de los seres vivientes: la **reproducción**. Se sabe que los virus infectan a todas las células, incluso a las células microbianas. La interacción huésped-virus tiende a ser muy específica y la variedad biológica de los segundos refleja la diversidad de posibles células huésped; y se manifiesta aún más por la amplia variedad de estrategias para su replicación y supervivencia.

Una partícula viral consiste en una molécula de ácido nucleico, ya sea ácido desoxirribonucleico (DNA) o ácido

ribonucleico (RNA), dentro de una cubierta proteínica o cápside. Las proteínas en la cápside, frecuentemente glucoproteínas, determinan la especificidad de interacción entre un virus y su célula huésped. La cápside protege al ácido nucleico y facilita la adhesión y la penetración de la célula huésped por el virus. Dentro de la célula, el ácido nucleico viral toma el control de la maquinaria enzimática del huésped para que funcione al servicio de la replicación del virus. En algunos casos, la información genética viral se integra como DNA en el cromosoma huésped; en otros, puede servir como base para la fabricación de copias del virus y la liberación de éstas de la célula. Este proceso provoca la replicación del ácido nucleico viral y la síntesis de proteínas virales específicas. La maduración consiste en el ensamblaje del recién sintetizado ácido nucleico con las subunidades proteínicas para formar partículas virales maduras, las cuales después se liberan al medio extracelular. Algunos virus muy pequeños requieren ayuda de otros para poder duplicarse en la célula huésped. El agente δ , también conocido como virus de la hepatitis D, es demasiado pequeño para codificar incluso una sola proteína de su cápside y necesita ser asistido por el virus de la hepatitis B para su transmisión. Se sabe que diferentes virus infectan a una amplia variedad de huéspedes animales y vegetales específicos, así como a procariontes, y por lo menos a un alga eucarionte y un protozoario. En hongos y en varios géneros de algas se han encontrado partículas semejantes a virus, que al parecer carecen de una fase extracelular infectante.

Algunas enfermedades transmisibles en las plantas son causadas por viroides, pequeñas moléculas de RNA circulares de cadena única y cerradas covalentemente, que existen como estructuras de tallo de doble cadena y burbuja; estas no poseen cápsides. Tienen un tamaño que va de 246 a 375 nucleótidos de largo. La forma extracelular del viroide es RNA desprotegido; no hay cápsula de ninguna clase. La molécula de RNA no contiene genes codificadores de proteínas; por consiguiente, el viroide depende por completo de las funciones del huésped para su replicación. El RNA del viroide se replica mediante la RNA polimerasa dependiente del DNA del huésped vegetal; la prioridad de esta enzima puede contribuir a la patogenicidad del viroide.

Se ha demostrado que los RNA de los viroides contienen secuencias invertidas y repetidas de bases en sus extremos 3' y 5', lo cual es una característica de los transposones y de los retrovirus (capítulo 7). Por lo que es probable que hayan evolucionado de ellos por delección de secuencias internas.

Las propiedades generales de los virus de los animales, patógenos para los humanos, se describen en el capítulo 29. Los virus de las bacterias se describen en el capítulo 7.

PRIONES

Descubrimientos importantes en los tres decenios anteriores han logrado la caracterización del agente transmisible que causa *scrapie*, una enfermedad degenerativa del sistema nervioso central (SNC) de las ovejas. Estos estudios han identificado, en preparaciones de cerebros infectados de ovejas, a una proteína específica del *scrapie* capaz de re-

producir los síntomas de esta enfermedad en ovejas que no estaban infectadas. Los intentos para identificar otros componentes, como el ácido nucleico, han sido infructuosos. Se introdujo el término de *prión* para diferenciarlo de los virus y viroides, y enfatizar así su naturaleza proteináica e infecciosa. La proteína del prión (PrP^c) es codificada por el DNA cromosómico del huésped; es una sialoglicoproteína con peso molecular de 33 000 a 35 000 y cuenta con un alto contenido de la estructura secundaria α helicoidal sensible a las proteasas y soluble en detergente. La PrP^c se expresa en la superficie de neuronas a través de un anclaje de glucosilfosfatidil inositol, en cerebros infectados como en los no infectados. Una isoforma anormal de esta proteína (PrP^{sc}) es el único componente conocido del prión y se ha relacionado con su transmisibilidad. Esta isoforma anormal difiere físicamente de la isoforma celular normal por su gran contenido de hoja plegada, insolubilidad en detergentes, tendencia a agregarse y su relativa resistencia a la proteólisis. Se cree que una proteína hipotética, denominada "proteína X", interactúa con un región de la PrP^c y le ayuda a convertirse en PrP^{sc}.

Existen otras enfermedades importantes producidas por priones. En los humanos se presentan el kuru, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, la de Gerstmann-Strausler-Scheinker y el insomnio familiar mortal. La encefalopatía espongiforme bovina, que se piensa es producida por el consumo de alimentos y huesos preparados a partir de desechos industrializados de ovejas, ha sido la responsable de la muerte de más de 170 000 cabezas de ganado en Gran Bretaña desde su descubrimiento en 1985. Una nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob se ha relacionado con la exposición humana a la encefalopatía espongiforme bovina en el Reino Unido y Francia. Una característica común de todas estas enfermedades es la transformación de una sialoglicoproteína codificada por el huésped en una forma resistente de proteasa a raíz de una infección.

Las enfermedades humanas debidas a priones son únicas en cuanto a que se manifiestan como enfermedades esporádicas, genéticas e infecciosas. El estudio de la biología del prión es un área emergente en la investigación biomédica y aún queda mucho por aprender.

PROCARIONTES

Las características distintivas primarias de las procariontes son su tamaño relativamente pequeño, por lo general del orden de 1 μ m de diámetro, y ausencia de una membrana nuclear. El DNA de casi todas las bacterias es circular, con una longitud de 1 mm; éste es el cromosoma procarionte. La mayoría de las procariontes tiene un solo cromosoma. El DNA cromosómico debe enrollarse más de 1000 veces para caber dentro de la membrana celular procarionte. Evidencias importantes sugieren que este enrollamiento sigue un orden y aproxima regiones específicas del DNA. La región especializada de la célula que contiene DNA se denomina nucleóide y se puede ver mediante microscopía electrónica, así como con microscopía ligera después de tratar la célula para hacer visible el nucleóide. Por tanto, sería un error concluir que la diferenciación subcelular, claramen-

te demarcada por membranas eucariontes, está ausente en las procariontes. Además, algunas de estas últimas forman estructuras subcelulares delimitadas por membranas, que tienen funciones especializadas, como los cromatóforos de las bacterias fotosintéticas. Tales estructuras procariontes difieren de su contraparte eucarionte en que las membranas circundantes de la región especializada son extensiones de la membrana celular.

Diversidad procarionte

El tamaño pequeño del cromosoma procarionte limita la cantidad de información genética que puede contener. Datos recientes basados en la secuenciación genómica completa indican que el número de genes dentro de un organismo procarionte puede variar desde 468, en *Mycoplasma genitalium*, hasta 4 288 en *Escherichia coli*; y muchos deben estar dedicados a funciones esenciales, como generación de energía, síntesis de macromoléculas y división celular. Cualquier procarionte contiene relativamente pocos genes que permiten la adaptación fisiológica del microorganismo a su ambiente. El intervalo de los posibles ambientes para procariontes es muy amplio, en consecuencia, el grupo procarionte abarca un conjunto heterogéneo de organismos especializados, cada uno adaptado a un nicho ecológico circunscrito y muy restringido.

La variedad de nichos para procariontes queda ejemplificada al considerar las estrategias empleadas en la generación de energía metabólica. La luz solar es la principal fuente de energía para la vida. Algunas células procariontes, como las bacterias púrpuras, convierten energía luminosa en energía metabólica en ausencia de producción de oxígeno. Otras células procariontes, como las bacterias verdeazules (cianobacterias), producen oxígeno, el cual puede, en ausencia de luz proporcionar energía a través de la respiración. Los microorganismos aerobios dependen de la respiración con oxígeno para su energía. Algunos microorganismos anaerobios pueden usar en su respiración aceptores de electrones diferentes del oxígeno. Muchos anaerobios efectúan fermentaciones en las cuales la energía deriva del reacondicionamiento metabólico de los sustratos químicos del crecimiento. La amplísima variedad de posibles sustratos químicos para el crecimiento en aerobiosis o anaerobiosis refleja la diversidad de las procariontes adaptadas a su utilización.

Comunidades de células procariontes

Una estrategia útil de subsistencia para los microorganismos especializados es entrar en consorcios, acomodados en los cuales las características fisiológicas de diferentes organismos contribuyen a la permanencia de todo el grupo. Si los organismos dentro de una comunidad interconectada físicamente provienen directamente de una sola célula, la comunidad es de origen clonal, capaz de contener hasta 10^8 células. La biología de una comunidad difiere sustancialmente de la de una sola célula. Por ejemplo, el gran número de células asegura, casi de hecho, la presencia en la clona de por lo menos una célula portadora de una variante de cualesquiera de sus genes en el cromosoma. Se garantiza

así, dentro de ella, la variabilidad genética, fuente del proceso evolutivo denominado selección natural. Es probable que el gran número de células dentro de la clona también proporcione protección fisiológica, por lo menos a algunos miembros del grupo. Los polisacáridos extracelulares, por ejemplo, pueden brindar protección contra los posibles agentes mortales, como los antibióticos o los iones de metales pesados. Las grandes cantidades de polisacáridos, producidos por el gran número de células dentro de la clona, pueden permitir a las células del interior resistir a la exposición de un agente mortal a una concentración tal, capaz de eliminar a células aisladas.

Muchas bacterias muestran un mecanismo de comunicación célula-célula llamado **sensibilización quórum**, que sirve para regular la transcripción de genes involucrados en diversos procesos fisiológicos, incluyendo bioluminiscencia, transferencia conjugada de plásmidos y producción de determinantes de virulencia. La sensibilización quórum depende de la producción de una o más moléculas señal difusoras llamadas **autoinductores** o **feromonas**, las cuales permiten a una bacteria vigilar su propia densidad de población celular. Este es un ejemplo del comportamiento multicelular en procariontes.

Una característica distintiva de las células procariontes es su capacidad de intercambiar pequeñas porciones de información genética. Esta información puede transportarse en **plásmidos**, pequeños elementos genéticos especializados capaces de replicarse dentro de, por lo menos, una línea celular procarionte. En ciertos casos, los plásmidos pueden transferirse de una célula a otra y llevar consigo paquetes de información genética especializada a toda una población. Algunos plásmidos tienen una **amplia variedad de huéspedes** que les permite transferir grupos de genes a diversos microorganismos. De interés particular son los **plásmidos de resistencia a fármacos**, los cuales pueden conferir resistencia al tratamiento con antibióticos.

La estrategia de supervivencia de una sola línea celular procarionte puede conducir a una serie de interacciones con otros microorganismos. Éstas pueden ser simbióticas, ejemplificadas en los complejos intercambios nutricionales entre los microorganismos dentro del intestino humano. Estos intercambios benefician tanto a los microorganismos como a su huésped. Las interacciones entre parásitos pueden ser muy nocivas para el huésped. La simbiosis avanzada o parasitismo puede llevar a la pérdida de las funciones en el simbiote o parásito que le hubieran permitido un crecimiento independiente del huésped.

Los micoplasmas, por ejemplo, son parásitos procariontes que han perdido la capacidad para formar una pared celular. La adaptación de estos microorganismos a su ambiente parasitario ha dado lugar a la incorporación de una cantidad sustancial de colesterol en sus membranas. Éste, que no se encuentra en otras procariontes, se asimila del entorno metabólico proporcionado por el huésped. La pérdida de función se ejemplifica también con los parásitos intracelulares obligados, como las **clamidias** y las **rickettsias**. Ambas bacterias son muy pequeñas (0.2 a $0.5 \mu\text{m}$ de diámetro) y dependen de la célula huésped para obtener muchos metabolitos y coenzimas esenciales. Dicha pérdida de la función se refleja por la presencia de un genoma más pequeño, con una menor cantidad de genes (véase cuadro 7-1).

Al parecer, los ejemplos más difundidos de simbiosis bacterianas son los cloroplastos y las mitocondrias, los organelos productores de energía de las eucariontes. Un conjunto importante de pruebas lleva a la conclusión de que los ancestros de estos organelos fueron **endosimbiontes**, procariontes que establecieron una simbiosis dentro de la membrana celular del huésped eucarionte ancestral. La presencia de múltiples copias de los organelos pudo contribuir al tamaño relativamente grande de las eucariontes y a su capacidad de especialización, un rasgo que al final se refleja en la evolución de los organismos multicelulares diferenciados.

Clasificación de las procariontes

Para comprender a cualquier grupo de microorganismos se requiere de una **clasificación**. Un sistema de clasificación apropiado posibilita a los científicos seleccionar aquellas características que permitan clasificar con rapidez y exactitud a los microorganismos recién descubiertos, y permite predecir muchas características adicionales que comparten con otros miembros de la misma categoría. En un hospital, la clasificación correcta de un microorganismo patógeno proporciona la vía más directa para su eliminación. Además, aporta un amplio conocimiento de las interrelaciones entre diferentes microorganismos, lo cual puede tener un gran valor práctico. Por ejemplo, la eliminación de un patógeno será relativamente más lenta si su hábitat está ocupado por una variante no patógena.

Los principios de la clasificación de procariontes se discuten en el capítulo 3. Para empezar, debe reconocerse que cualquier característica puede servir como un posible criterio de clasificación. Sin embargo, no todos los criterios tienen la misma eficacia en el agrupamiento de los microorganismos. La posesión de DNA, por ejemplo, es ineficaz para distinguirlos porque todas las células lo poseen. Tampoco es útil la presencia de un plásmido con extensa variedad de huéspedes, porque se pueden encontrar en diversos huéspedes y no necesariamente están presentes todo el tiempo. Los criterios apropiados pueden ser estructurales, fisiológicos, bioquímicos o genéticos. Las **esporas** (estructuras celulares especializadas que permiten la supervivencia en ambientes extremos) son criterios estructurales útiles para clasificar debido a que sólo subconjuntos muy definidos de bacterias las forman. Algunos grupos bacterianos pueden subdividirse de manera eficiente con base en su propiedad de fermentar determinados carbohidratos. Dichos criterios pueden ser ineficaces cuando se aplican a otros grupos bacterianos carentes de alguna capacidad de fermentación. Una prueba bioquímica, la **tinción de Gram**, es un mecanismo eficaz de clasificación porque la respuesta a la tinción refleja diferencias complejas y fundamentales en la superficie bacteriana, que dividen a las bacterias en dos grupos principales.

Los criterios genéticos se utilizan cada vez más en la clasificación bacteriana, y muchos de los avances son ahora posibles gracias al desarrollo de la tecnología del DNA recombinante. En la actualidad es factible diseñar sondas de DNA que identifiquen con rapidez a microorganismos que poseen regiones genéticas específicas compartidas con sus progenitores. La comparación de las secuencias del DNA en algunos genes permitió aclarar las **interrelaciones filo-**

genéticas entre las procariontes. Con base en sus afinidades evolutivas pueden trazarse líneas celulares ancestrales y agrupar así a los microorganismos. Estas investigaciones han llevado a conclusiones sorprendentes. Por ejemplo, la comparación de secuencias del citocromo *c* sugiere que todas las eucariontes, incluso las células eucariontes humanas, surgieron de uno de los tres grupos diferentes de bacterias púrpuras fotosintéticas. Esta conclusión explica, en parte, el origen evolutivo de las células eucariontes, pero no considera el punto de vista generalmente aceptado de que estas células derivaron de la fusión de líneas celulares procariontes diferentes.

Bacterias y arqueobacterias: la principal subdivisión entre procariontes

Un éxito importante en la filogenia molecular ha sido la demostración de que las procariontes se dividen en dos grupos principales. La mayor parte de las investigaciones se ha orientado sólo a uno de ellos, las bacterias. El otro grupo, las arqueobacterias, ha recibido menos atención hasta últimas fechas, en parte porque muchas son difíciles de estudiar en el laboratorio. Por ejemplo, algunas arqueobacterias se destruyen al contacto con el oxígeno y otras crecen a temperaturas que exceden a las del agua en ebullición. Antes de disponer de pruebas moleculares parecía imposible la división de las arqueobacterias en subgrupos principales. Los metanógenos realizan una respiración anaeróbica que origina metano; para su crecimiento, los halófilos requieren concentraciones de sal extremadamente altas, y los termocidófilos elevadas necesitan temperaturas o acidez. Ahora se sabe que estas procariontes comparten rasgos bioquímicos (como los componentes de la pared celular o de la membrana) que los separan de todos los organismos vivos. Una característica fascinante compartida por arqueobacterias y eucariontes es la presencia de intrones en los genes. No se ha definido la función de los intrones —segmentos del DNA que interrumpen la información de éste dentro de los genes—. Lo que sí se sabe es que los intrones son una característica fundamental compartida por el DNA de las arqueobacterias y de las eucariontes. Esta característica común sugiere que, así como las mitocondrias y los cloroplastos al parecer son derivados evolutivos de las bacterias, el núcleo eucarionte puede provenir de un ancestro arqueobacteriano.

PROTISTAS

El "núcleo verdadero" de las eucariontes (del griego *karios*, "núcleo") es sólo uno de sus características distintivas. Los organelos delimitados por membranas (microtúbulos) y los microfilamentos de las eucariontes forman una estructura intracelular compleja difícil de encontrar en las procariontes. Los elementos para la movilidad en las eucariontes son los flagelos o los cilios, estructuras complejas multifilamentosas que no se parecen a los flagelos de las procariontes. La expresión génica en las eucariontes tiene lugar a través de una serie de etapas que logran la integración fisiológica del núcleo con

el retículo endoplásmico, estructura que no tiene equivalente en las procariontes, las cuales se distinguen por la organización de su DNA celular en cromosomas, separados durante la división celular por un aparato mitótico clásico.

En general, la transferencia genética entre eucariontes depende de la fusión de gametos haploides para formar una célula diploide, que contiene un conjunto completo de los genes derivados de cada gameto. El ciclo de vida de numerosas eucariontes ocurre casi en su totalidad en el estado diploide, forma que no se encuentra en las procariontes. La fusión de gametos para constituir la progenie reproductiva es un evento muy específico y establece las bases para las especies eucariontes. Este término sólo puede aplicarse metafóricamente a las procariontes, las cuales intercambian fragmentos del DNA por recombinación. La clasificación taxonómica de las procariontes con frecuencia se basa en propiedades morfológicas compartidas, y es importante observar que muchos determinantes taxonómicamente útiles se relacionan con la reproducción. Casi todas las especies eucariontes que han evolucionado con éxito son aquellas en las cuales las células muy emparentadas, miembros de la misma especie, pueden recombinarse para formar su descendencia viable. Las estructuras que contribuyen directa o indirectamente a la reproducción tienden a ser muy desarrolladas y —con modificaciones mínimas entre especies muy cercanas— están ampliamente conservadas.

Las células eucariontes microbianas (protistas) pertenecen a los cuatro grupos principales siguientes: algas, protozoarios, hongos y mohos del cieno. Debe señalarse que estos agrupamientos no son necesariamente filogenéticos: microorganismos muy relacionados pudieron haberse clasificado en grupos separados, debido a que no se habían reconocido sus semejanzas bioquímicas y genéticas.

Algas

El término "algas" se ha utilizado por mucho tiempo para denotar a todos los microorganismos productores de O_2 como resultado de la fotosíntesis. Un subgrupo importante de estos microorganismos (las bacterias verdeazules o cianobacterias) son procariontes y ya no se denominan algas. Esta clasificación es exclusiva para microorganismos eucariontes fotosintéticos. Todas las algas contienen clorofila en la membrana fotosintética de sus cloroplastos subcelulares. Muchas especies de algas son microorganismos unicelulares; otras pueden formar estructuras multicelulares muy grandes. Las especies de algas marinas o algas pardas en ocasiones tienen cientos de metros de longitud.

Protozoarios

Son protistas unicelulares no fotosintéticos. Los protozoarios más primitivos se observan como formas flageladas que en muchos aspectos se asemejan a las algas. Es probable que los ancestros de estos protozoarios fueran algas que se convirtieron en heterótrofos: los requerimientos nutricionales de estos microorganismos se satisfacen con compuestos orgánicos. La adaptación a un modo de vida heterótrofo se acompañó en ocasiones de la pérdida de cloroplastos y, de

esta manera, las algas dieron lugar a protozoarios muy emparentados. Procesos semejantes se han observado en el laboratorio, dando como resultado la mutación o la adaptación fisiológica.

Al parecer, los tipos ameboides y ciliados han evolucionado a partir de los protozoarios flagelados: se conocen formas intermedias que tienen flagelos en una etapa del ciclo vital y pseudópodos (característica de las amebas) en otra. Un cuarto grupo importante de los protozoarios son los esporozoos, parásitos con ciclos de vida complejos que incluyen una etapa latente o de espora.

Hongos

Los hongos son protistas no fotosintéticos que crecen como una masa de filamentos ramificados y entrelazados ("hifas"), conocidos como micelio. Aunque las hifas exhiben paredes transversales, éstas están perforadas y permiten el paso libre de núcleos y citoplasma. De esta manera, el microorganismo entero se conoce como cenocito (masa multinucleada de citoplasma continuo) confinado dentro de una serie de tubos ramificados. Estos tubos, hechos de polisacáridos como la quitina, son homólogos a las paredes celulares. Las formas miceliales se denominan mohos; algunos tipos, como las levaduras, no forman un micelio, pero se reconocen con facilidad como hongos por la naturaleza de su reproducción sexual y por la presencia de formas de transición.

Quizá los hongos representan una descendencia evolutiva de los protozoarios; no se relacionan con los actinomicetos, que son bacterias miceliales a las que se parecen superficialmente. Los hongos se subdividen como sigue: Zygomycotina (ficomicetos), Ascomycotina (ascomicetos), Basidiomycotina (basidiomicetos) y Deuteromycotina (hongos imperfectos).

La evolución de los ascomicetos a partir de los ficomicetos se observa en un grupo de transición, cuyos miembros forman un cigoto que luego se transforma en un ascó. Se cree que a su vez los basidiomicetos han evolucionado de los ascomicetos. La clasificación de los hongos se describe con detalle en el capítulo 45.

Mohos del cieno

Estos microorganismos se caracterizan por la presencia, en una etapa de su ciclo de vida, de una masa de citoplasma ameboides y multinucleada llamada plasmodio. El plasmodio de un moho es análogo al micelio de un hongo verdadero. Los dos son cenocitos. En este último, el flujo del citoplasma está confinado a la red de tubos de quitina, mientras que en el primero el citoplasma puede fluir en todas direcciones. Este flujo hace que el plasmodio emigre en la dirección de su fuente de alimentos, frecuentemente bacterias. En respuesta a una señal química, el 3', 5'-monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) (capítulo 7), el plasmodio, que alcanza un tamaño macroscópico, se diferencia en un cuerpo alargado que puede producir células individuales motiles. Estas células, flageladas o ameboides, inician un nuevo ciclo en la vida del moho del cieno. Con frecuencia, el ciclo comienza con la fusión sexual de células aisladas.

El ciclo de vida de estos mohos del cieno ilustra un tema central de este capítulo: la interdependencia de las formas vivas. El crecimiento de los mohos del cieno depende de los nutrientes proporcionados por las bacterias o, en ciertos casos, por las células vegetales. La reproducción de los mohos a través de los plasmodios puede depender del reconocimiento intercelular y de la fusión de células de la misma especie. El conocimiento completo de un microorganismo requiere tanto del conocimiento de los otros microorganismos con los cuales ha coevolucionado como de una apreciación de los límites de las respuestas fisiológicas que pueden contribuir a su supervivencia.

Preguntas de revisión

- ¿Cuál de los siguientes términos caracteriza la interacción entre un hongo y algas en un líquen?
A. Parasitismo
B. Simbiosis
C. Endosimbiosis
D. Endoparasitismo
E. Consorcio
- ¿Cuál de los siguientes agentes carece de ácido nucleico?
A. Bacterias
B. Virus
C. Viroides

- D. Priones
E. Protozoarios
- ¿Cuál de los siguientes no es un protista?
A. Bacterias
B. Algas
C. Protozoarios
D. Hongos
E. Mohos del cieno
- ¿Cuál de los siguientes agentes contiene al mismo tiempo DNA y RNA?
A. Bacterias
B. Virus
C. Viroides
D. Priones
E. Plásmidos
- Un hombre de 65 años de edad desarrolla demencia; ésta progresa en el transcurso de varios meses con ataxia y somnolencia. Un patrón electroencefalográfico muestra paroxismos con voltajes altos y ondas lentas sugestivas de enfermedad de Creutzfeldt-Jakob. ¿Cuál de los siguientes agentes causa esta enfermedad?
A. Bacterias
B. Virus
C. Viroide
D. Prion
E. Plásmido

Respuestas: 1 = B; 2 = D, 3 = A; 4 = A; 5 = D.

REFERENCIAS

Libros

- Lederberg J (editor): *Encyclopedia of Microbiology*. 4 vols. Academic Press, 1992.
- Pelczar MJ Jr, Chan ECS, Krieg NR: *Microbiology: Concepts and Applications*. McGraw-Hill, 1993.
- Reisser W (editor): *Algae and Symbiosis: Plants, Animals, Fungi, Viruses, Interactions Explored*. Biopress, 1992.
- Sleigh MA: *Protozoa and Other Protists*. Chapman & Hall, 1990.

Artículos y revistas

- Belay ED: Transmissible spongiform encephalopathies in humans. *Annu Rev Microbiol* 1999;53:283.
- Diener TO: Viroids and the nature of viroid disease. *Arch Virol* 1999;15(Suppl):203.
- Olsen GJ, Woese CR: The winds of (evolutionary) change: Breathing new life into microbiology. *J Bacteriol* 1994;176:1.
- Prusiner SB: Biology and genetics of prion diseases. *Annu Rev Microbiol* 1994;48:65.

Estructura celular

MÉTODOS ÓPTICOS

Microscopio de luz

En condiciones ideales, el poder de resolución del microscopio de luz es, aproximadamente, la mitad de la longitud de onda de la luz utilizada. (El **poder de resolución** es la distancia que debe separar a dos fuentes luminosas si éstas se han de observar como dos imágenes distintas). Con luz amarilla de longitud de onda de $0.4 \mu\text{m}$, los diámetros más pequeños que pueden observarse como dos puntos distintos y separados entre sí son de alrededor de $0.2 \mu\text{m}$. La amplificación útil de un microscopio es la que permite observar las partículas más pequeñas susceptibles de resolución. Por lo general, los microscopios usados en bacteriología utilizan los objetivos de 90 diámetros de aumento con oculares de 10 diámetros para amplificar los especímenes 900 veces: por consiguiente, partículas de $0.2 \mu\text{m}$ de diámetro pueden amplificarse casi a 0.2 mm y resultar así claramente visibles. Una amplificación mayor no daría mejor resolución de los detalles y reduciría el área de observación (campo).

El poder de resolución del microscopio puede mejorarse sólo mediante el uso de luz con longitud de onda menor de $0.2 \mu\text{m}$ para permitir así la resolución de partículas de $0.1 \mu\text{m}$ de diámetro. Para tales microscopios se utilizan lentes de cuarzo y sistemas fotográficos muy complicados y costosos como para uso general.

Microscopio electrónico

El alto poder de resolución del microscopio electrónico ha permitido que los científicos observen con detalle las estructuras de las células procarionte y eucarionte. La mayor resolución de este microscopio se debe al hecho de que los electrones tienen una longitud de onda mucho más corta que los fotones de la luz blanca.

Hay dos tipos de microscopios electrónicos de uso general: el microscopio electrónico de transmisión (MET), que tiene muchas características en común con el microscopio de luz, y el microscopio electrónico de barrido (MEB). El MET fue el primero en desarrollarse y emplea un haz de electrones proyectados desde un cañón y dirigidos o enfocados por una lente condensadora electromagnética sobre la muestra u objeto delgado. Al chocar los electrones en la muestra se dise-

minan diferencialmente según la cantidad y masa de átomos en ésta: algunos electrones pasan a través del objeto y son concentrados y enfocados por una lente objetivo electromagnética que forma la imagen del objeto y la presenta a la lente proyectora para una amplificación posterior. La imagen se percibe al permitir su registro en una pantalla que fluoresce cuando recibe el impacto de los electrones y se puede grabar en una película fotográfica. El MET permite la resolución de partículas separadas por $0.001 \mu\text{m}$. Los virus, con diámetros de 0.01 a $0.2 \mu\text{m}$ pueden definirse con nitidez.

Por lo general, el MEB tiene un poder de resolución menor que el MET; no obstante, es útil para proporcionar imágenes tridimensionales de la superficie de objetos microscópicos. Los electrones se enfocan mediante un sistema de lentes en un punto muy fino. La interacción de los electrones con la muestra causa la liberación desde la superficie de ésta de distintos tipos de radiación (es decir, electrones secundarios), los cuales se capturan por un detector apropiado, se amplifican y luego se transforman en imágenes en una pantalla de televisión.

Una técnica importante en la microscopía electrónica es el uso del "sombreado". Éste consiste en el depósito de una capa delgada de metal pesado (p. ej., de platino) sobre el objeto al colocarlo en el trayecto de un haz de iones metálicos en el vacío. El haz se dirige oblicuamente de manera que el objeto adquiere una "sombra" en forma de un área no recubierta en el lado opuesto. Cuando después se hace pasar un haz de electrones a través de la preparación recubierta y se obtiene una impresión positiva de la imagen "negativa" se logra un efecto tridimensional (figura 2-26).

Otras técnicas importantes en microscopía electrónica incluyen el uso de cortes ultradelgados de material incluido; un método de secado por congelación que evita la distorsión de las muestras causada por los procedimientos convencionales de secado; y el uso de una tinción negativa con un material electrodensito como el ácido fosfotúngstico o las sales de uranio (figura 42-1). Sin estas sales de metales pesados no habría un suficiente contraste para detectar los detalles de la muestra.

Iluminación de campo oscuro

La microscopía de campo oscuro se realiza frecuentemente con el mismo microscopio con el que se practica la microscopía de luz. La iluminación para la microscopía de campo oscuro se obtiene mediante un condensador especial que bloquea

los rayos de luz directos y deflece en un ángulo oblicuo la luz proveniente de un espejo situado al lado del condensador. Esto crea un "campo oscuro" contrastante contra los bordes iluminados de los objetos cuando éstos dispersan la luz, lo que se logra cuando los rayos oblicuos se reflejan desde los bordes de la muestra hacia arriba, al objetivo del microscopio. Esta técnica es útil para observar microorganismos como el *Treponema pallidum*, espiroqueta que tiene un diámetro menor de 0.2 μm y el cual, por tanto, no se puede observar con luz directa (figura 2-1).

Microscopia de contraste de fase

El microscopio de contraste de fase se basa en el hecho de que las ondas luminosas que pasan a través de objetos transparentes, como las células, emergen en fases diferentes según las propiedades de los materiales por los que pasan. Un sistema óptico especial convierte esta diferencia de fase en una diferencia de intensidad; de este modo, unas estructuras aparecen más oscuras que otras. Una característica importante es que así se diferencian las estructuras internas en las células vivas; en cambio, con el microscopio ordinario se observan preparaciones de materiales muertos y teñidos.

Microscopia confocal

El microscopio confocal utiliza potentes rayos láser y ofrece una mejor imagen realizada por computadora para proporcionar así una visión casi tridimensional de muestras gruesas fluorescentes. La microscopia confocal ha hecho importantes contribuciones al campo de la biología celular.

Autorradiografía

Si las células a las que se han incorporado isótopos radiactivos se fijan en un portaobjetos, se cubren con emulsión fotográfica y se almacenan en la oscuridad por un período

adecuado, aparecen huellas en la película revelada que emanan de los sitios de desintegración radiactiva. Si las células se marcan con un emisor débil como el tritio, las huellas son lo suficientemente ciertas como para mostrar la posición del marcador radiactivo en la célula. Este procedimiento, denominado autoradiografía, ha sido muy útil para seguir la replicación del DNA con el empleo de timidina marcada con tritio como trazador específico. Una variación de este método, la cual utiliza sondas de ácido nucleico marcadas, se conoce como **hibridación *in situ*** y se usa para detectar la presencia de ácido nucleico viral, bacteriano y micótico en células y tejidos.

ESTRUCTURA DE LA CÉLULA EUCARIONTE

Núcleo

El núcleo contiene el genoma de la célula. Está delimitado por una membrana que consiste en un par de membranas separadas por un espacio de grosor variable. La membrana interna se continúa con el retículo endoplásmico. La membrana nuclear exhibe permeabilidad selectiva debida a poros, los cuales consisten en un complejo de varias proteínas, cuya función es importar sustancias al interior y exportar sustancias al exterior del núcleo. Los cromosomas de las células eucariontes contienen macromoléculas del DNA lineal dispuestas como una doble hélice. Sólo son visibles con un microscopio de luz cuando la célula está en división y el DNA se encuentra en una forma muy condensada; en otros momentos los cromosomas no están condensados y se presentan como en la figura 2-2. Las moléculas del DNA eucarionte se relacionan con proteínas básicas denominadas histonas, las cuales se unen con el DNA mediante interacciones iónicas.

Una estructura frecuentemente visible dentro del núcleo es el nucleolo, zona rica en RNA, que es el sitio donde se sintetiza el RNA ribosomal (figura 2-2).

Estructuras citoplásmicas

El citoplasma de las células eucariontes se caracteriza por la presencia de retículo endoplásmico, vacuolas, plástidos que se autorreproducen y un complejo citoesqueleto constituido por microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios.

El **retículo endoplásmico (RE)** es una red de conductos limitados por membranas que se continúa con la membrana nuclear. Se reconocen dos tipos de retículo endoplásmico: **rugoso** y **liso**. El primero tiene ribosomas adheridos; el segundo, no (figura 2-2). El RE rugoso participa en la síntesis de glicoproteínas y también produce material nuevo para la membrana, el cual es transportado a lo largo de la célula. El RE liso participa en la síntesis de lípidos y en algunos aspectos del metabolismo de los carbohidratos. El **aparato de Golgi** consiste en un cúmulo de membranas apiladas que funciona en coordinación con el RE para modificar químicamente y clasificar los productos del RE en aquellos destinados para ser secretados y aquellos que funcionan en otras estructuras membranosas de la célula.



Figura 2-1. Observación de un campo oscuro positivo. Los treponemas se reconocen por su forma característica en sacacorchos y movimiento deliberado hacia adelante y hacia atrás con rotación alrededor de su eje longitudinal. (Reproducida con autorización de Morse S. A., Moreland AA, Thompson SE [editores]; *Atlas of Sexually Transmitted Disease*, Gower, 1990.)

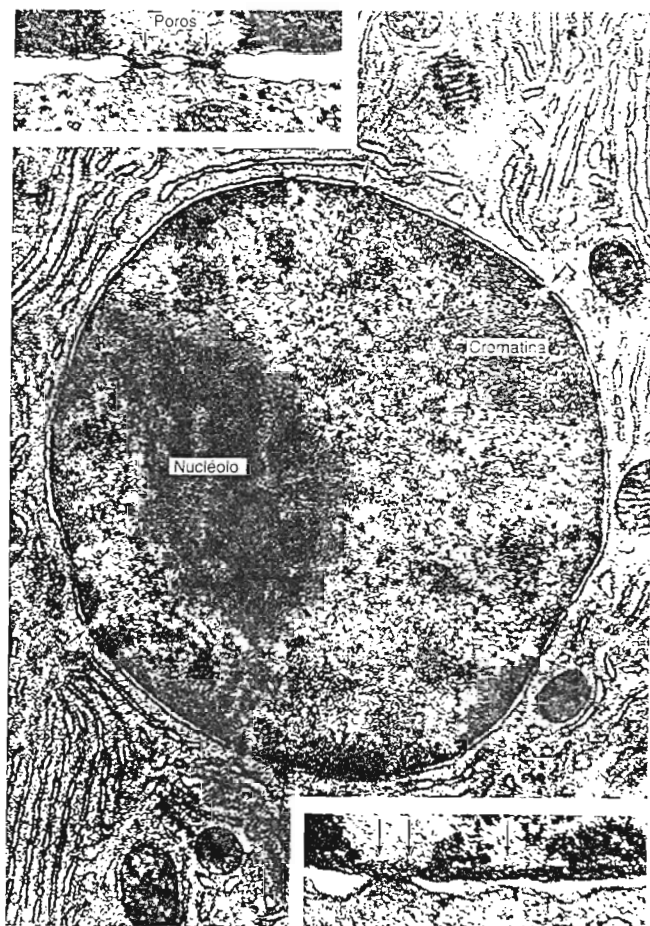


Figura 2-2. Micrografía electrónica de un corte delgado de un núcleo eucarionte clásico que muestra un nucleolo prominente y grandes agregados de heterocromatina adheridos a la membrana nuclear que está interrumpida por poros (flechas). **Inserto superior izquierdo:** dos poros nucleares con sus diafragmas. **Inserto inferior derecho:** la lámina fibrosa presente en la cara interna de la envoltura celular. Varias mitocondrias son visibles en el citoplasma. (Reproducido con autorización de Fawcett D. W.: *Bloom and Fawcett, A Textbook of Histology*, 12th ed. Copyright © 1994. Por permiso de Chapman & Hall, New York, NY.)

Los plástidos incluyen a las **mitocondrias** y a los **cloroplastos**.

Las mitocondrias son del tamaño de las procariontes y contienen dos juegos de membranas. La membrana externa encierra una membrana interna plegada; dichos pliegues se denominan crestas. En las crestas se encuentra el sistema de transporte de electrones respiratorio. Los cloroplastos son organelos celulares fotosintéticos capaces de convertir la energía solar en energía química a través de la fotosíntesis. El tamaño, la forma y el número de cloroplastos por célula varían ampliamente. En contraste con

las mitocondrias, los cloroplastos, generalmente, son más largos que las procariontes. Las mitocondrias y los cloroplastos contienen su propio DNA, el cual modifica algunas (no todas) de sus proteínas constituyentes y RNA de transferencia.

Una variedad de microorganismos eucariontes anaerobios o aerotolerantes (p. ej. *Trichomonas vaginalis*) carece de mitocondrias y en su lugar contiene un organelo respiratorio dentro de una membrana llamada **hidrogenosoma**. El hidrogenosoma, de tamaño parecido al de la mitocondria, carece de crestas y de las enzimas del ciclo del ácido tricar-

boxílico. El piruvato es metabolizado por el hidrogenosoma; de este proceso resultan H_2 , CO_2 , acetato y ATP.

El citoesqueleto comprende sistemas de **microtúbulos** que intervienen en las funciones de la membrana citoplásmica y en la forma de la célula, así como en la estructuración del huso mitótico y de los componentes flagelares. También está formado por sistemas de **microfilamentos** que contienen actina y miosina, las cuales proporcionan el mecanismo de motilidad ameboide, y por **filamentos de interconexión**, cuya función es estructurar el citoplasma y resistir el estrés aplicado externamente a la célula.

Capas superficiales

El citoplasma está contenido dentro de una membrana plasmática compuesta por proteínas y fosfolípidos, similar a la membrana celular procarionte ilustrada en la figura 2-14. La mayor parte de las células animales no tienen otras capas superficiales, sin embargo, las células de las plantas tienen una pared celular exterior constituida por celulosa. Muchos microorganismos eucariontes también tienen una **pared celular** exterior, que puede estar constituida por un polisacárido, como la celulosa o la quitina, o ser inorgánica, como la pared de sílice de las diatomeas.

Organelos de motilidad

Muchos microorganismos eucariontes tienen organelos llamados **flagelos** o **cilios**, que tienen movimiento ondulante para impulsar a la célula a través del agua. Los flagelos eucariontes emergen de la región polar de las células (figura 2-3), mientras que los cilios, que son más cortos que los flagelos, la rodean. Tanto los flagelos como los cilios de las células eucariontes tienen la misma estructura básica y composición bioquímica. Ambos están constituidos por una serie de microtúbulos, cilindros proteínicos huecos conformados por una proteína llamada **tubulina** y rodeados por una membrana. El ordenamiento de los microtúbulos se conoce como "sistema 9 + 2", ya que consta de nueve pares de microtúbulos periféricos que rodean a dos microtúbulos centrales simples (figura 2-4).

ESTRUCTURA DE LA CÉLULA PROCARIONTE

La célula procarionte es más simple que la célula eucarionte a cualquier nivel, con una excepción: la pared celular puede ser más compleja.

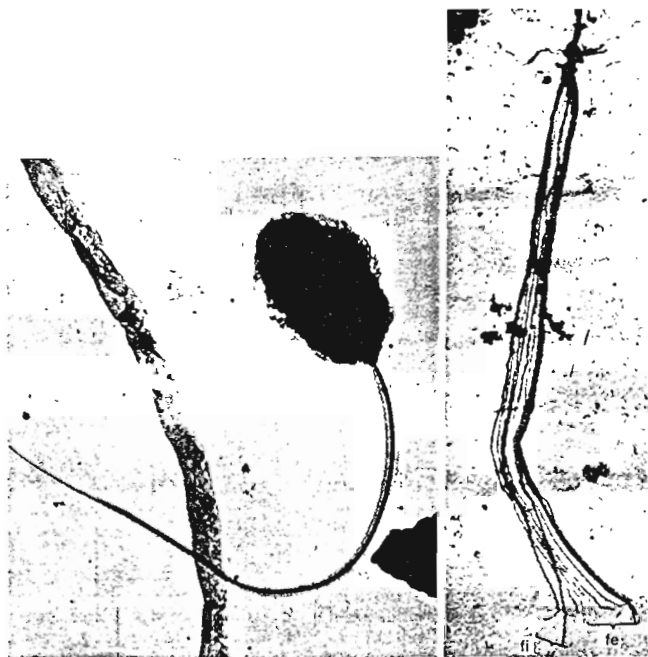


Figura 2-3. Flagelos eucariontes (3000 x). **Izquierda:** zoospora del hongo *Allomyces* con un flagelo único. **Derecha:** flagelo parcialmente desintegrado de *Allomyces* que muestra dos fibrillas internas (fi) y nueve fibrillas externas (fe). (Cortesía de Manton I et al.: J Exp Bot 1952;3:204.)

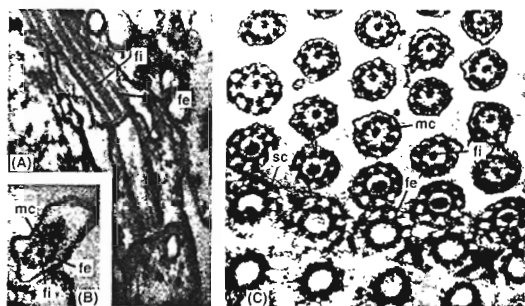


Figura 2-4. Estructura fina de flagelos y cilios eucariontes (31 500 $\times$). A: corte longitudinal de un flagelo de *Bodo* (un protozoario), que muestra el cinetoplasto (c) a partir del cual se extienden las fibrillas externas (fe). Obsérvese el origen de las fibrillas internas (fi) en la superficie celular. B: corte transversal del mismo flagelo cerca de la superficie de la célula, que muestra las fibrillas externas (fe), las fibrillas internas (fi) y una prolongación de la membrana celular (mc). C: corte transversal a través de la capa superficial de un protozoario ciliado *Glaucoma*, que cruza a lo ancho de un campo de cilios, tanto dentro de la membrana celular (mitad inferior) como fuera de la misma (mitad superior) (sc = superficie celular). Micrografías electrónicas tomadas por el Dr. D Pitelka. (Reproducida con autorización de Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg E. A: *The Microbial World*, 2nd ed. Copyright © 1963. Por permiso de Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ.)

Nucleoide

El nucleoide procarionte, equivalente al núcleo eucarionte, puede observarse mediante microscopio de luz en material teñido (figura 2-5), es Feulgen-positivo, lo cual indica la presencia de DNA. El DNA cargado en forma negativa se neutraliza, cuando menos en parte, por poliaminas pequeñas y iones de magnesio, aunque existen en las bacterias proteínas semejantes a las histonas que presuntamente desempeñan una función semejante a la que éstas tienen en la cromatina de las células eucariontes.

Las micrografías electrónicas, como la que se observa en la figura 2-6 revelan la ausencia de membrana nuclear y de un aparato mitótico. La región nuclear está llena de fibrillas de DNA. Desde hace tiempo se ha considerado que el nucleoide de las células bacterianas consiste en una sola molécula circular continua, con un peso molecular aproximado de 3×10^9 . Por tanto, puede considerarse que es un cromoso-

ma haploide, de casi 1 mm de largo en el estado desplegado. El número de copias de este cromosoma en una célula depende de la etapa del ciclo celular; no obstante, cuando hay múltiples copias, todas son iguales. Esta concepción típica del cromosoma bacteriano se ha revisado recientemente a raíz de los estudios que emplean electroforesis en gel de campos pulsados para separar las grandes moléculas del DNA y diferenciar entre las variantes circular y lineal. Los resultados obtenidos en estos estudios revelan que algunas procariontes (p. ej., *Borrelia burgdorferi*, el agente de la enfermedad de Lyme) tienen un cromosoma lineal. También se han encontrado cromosomas lineales en varias especies de *Streptomyces*.

El nucleoide de la mayor parte de las células bacterianas puede aislarse mediante lisis suave seguida por centrifugación. Las estructuras aisladas así están constituidas por DNA unido a cantidades menores de RNA, RNA polimerasa y quizá por otras proteínas. El DNA bacteriano, aislado directamente sobre la película de sostén en el microscopio electrónico a partir de la cuidadosa lisis celular en solución salina fisiológica, se observa que tiene una estructura en cuentas de collar semejante a la cromatina eucarionte (figura 2-7).

El examen, mediante microscopía electrónica, de cortes delgados senados de células bacterianas revela que el DNA está adherido en un punto a una invaginación de la membrana citoplásmica llamada mesosoma. Se piensa que esta adhesión desempeña alguna función en la separación de los dos cromosomas hermanos después de la replicación cromosómica (véase División celular, más adelante). La genética y la química de los cromosomas bacterianos se presentan en el capítulo 4.

Estructuras citoplásmicas

Las células procariontes carecen de plástidos autónomos, como mitocondrias y cloroplastos; en su lugar, las enzimas de transporte electrones están situadas en la membrana cito-

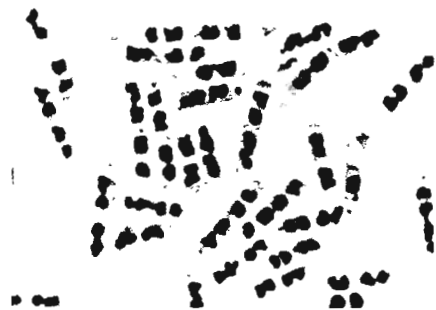


Figura 2-5. Núcleos de *Bacillus cereus* (2500 $\times$) (Cortesía de Robinow C: *Bacteriol Rev* 1956;20:207.)

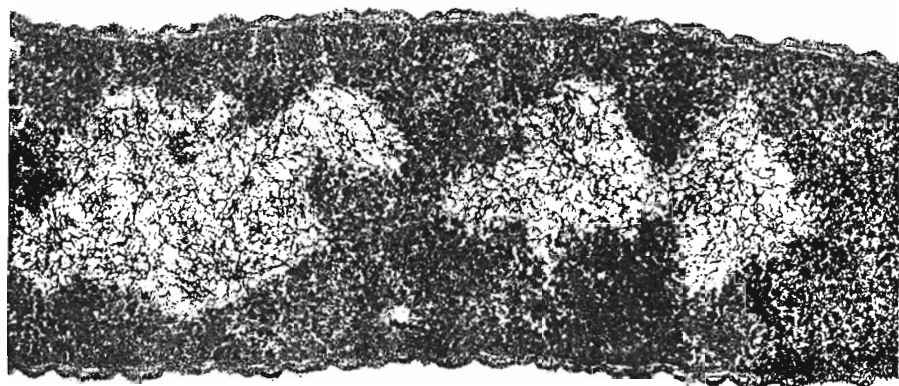


Figura 2-6. Corte fino de *E. coli* fijado con tetraóxido de osmio y posfijado con acetato de uranilo acuoso que muestra dos regiones nucleares llenas con fibrillas de DNA. (Cortesía de Robinow C, Kellenberger E: Microbiol Rev 1994;58:211.)

plásmica. Los pigmentos fotosintéticos (carotenoides, bacterioclorofila) de bacterias fotosintéticas están integrados dentro de sistemas membranosos internos formados por la invaginación de la membrana citoplásmica, la membrana citoplásmica misma o estructuras especializadas circunscritas por membranas no unitarias llamadas clorosomas. En algunas cianobacterias (llamadas anteriormente algas azul verdes), las membranas fotosintéticas forman frecuentemente estructuras de capas múltiples conocidas como **tilacoides** (figura 2-8). Los principales pigmentos accesorios

usados para recoger la luz son las ficobilinas presentes en la superficie externa de las membranas tilacoides.

Es común que las bacterias almacenen materiales de reserva en forma de gránulos insolubles depositados como polímeros neutros y osmóticamente inertes. Cuando la fuente de nitrógeno, azufre o fósforo es limitada, o el pH bajo, algunas bacterias convierten el exceso de carbono en el medio en el polímero ácido poli β -hidroxibutírico (figura 2-9) y otras bacterias lo transforman a polímeros de glucosa, como el almidón y el glucógeno. Los gránulos se usan como fuentes de carbono cuando se restablecen las síntesis de las proteínas y del ácido nucleico. De manera similar, ciertas bacterias fotosintéticas oxidan al sulfuro del H_2S para producir gránulos intracelulares de azufre elemental. Por último, muchas bacterias acumulan gránulos de polifosfato, los cuales son reservas de fosfato inorgánico que pueden emplearse en la síntesis del ATP. A veces estos gránulos se conocen como **gránulos de volutina** o **gránulos metacromáticos** debido a que se tiñen de rojo con un colorante azul. Son característicos de las corinebacterias (capítulo 13).

Las estructuras microtubulares, muy propias de las células eucariontes, no suelen presentarse en las procariontes. Sin embargo, en algunas ocasiones el microscopio electrónico ha revelado la existencia de estructuras bacterianas parecidas a microtúbulos.

Ciertos grupos especializados de bacterias contienen en su citoplasma vesículas circunscritas por proteínas. Estas vesículas incluyen a los **carboxisomas** (contienen ribuloadifosfato carboxilasa, la enzima clave para la fijación del CO_2) en algunas bacterias autotróficas, a los **magnetosomas** (membranas limitadas por gránulos de magnetita [Fe_3O_4] o sulfuro de hierro) que permiten a ciertas bacterias la propiedad de la magnetotaxia (es decir, migración u orientación de la célula con respecto al campo magnético de la Tierra) y a las **vesículas de gas**, que se encuentran casi exclusivamente en microorganismos de ambientes acuáticos,

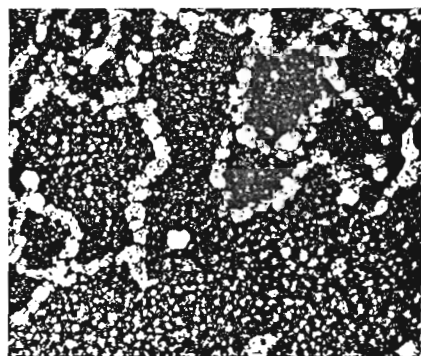


Figura 2-7. DNA de bacteriófago λ , preparado por lisis, con lisozima, de células infectadas en solución de NaCl a 150 mmol/L directamente sobre una película para microscopio electrónico. La estructura como cuentas de collar muestra un patrón de 13 nm que se repite. (Reproducida con autorización de Griffith J. D: Visualization of prokaryotic DNA in a regularly condensed chromatin-like fiber. Proc Natl Acad Sci USA 1976;73:563.)



Figura 2-8. Corte fino de una cianobacteria, *Anacystis* (80 500 $\times$). l = laminillas que contienen pigmentos fotosintéticos; pc = pared celular; n = región nuclear. (Reimpreso con autorización del Rockefeller Institute Press, de Ris H, Singh RN: J Biophys Biochem Cytol 1961;9:63.)

a los cuales les permiten la flotación. Las vesículas de gas son los componentes de las vacuolas gaseosas observadas inicialmente en las cianobacterias (figura 2-10).

Envoltura celular

En términos generales, las capas que rodean a la célula se conocen como envoltura celular. La estructura y la organización de ésta difieren en las bacterias grampositivas y en las gramnegativas; de hecho, esta diferencia es la que define a esos dos grandes grupos de especies bacterianas. En la figura 2-11 se presentan diagramas de los dos tipos de envolturas celulares.

Muchas bacterias, tanto eubacterias como arqueobacterias grampositivas y gramnegativas poseen un retículo

paracristalino y bidimensional, estructurado con subunidades de moléculas de proteínas o de glucoproteínas (**capa S**) como el componente más externo de la envoltura celular. Por lo general, las capas S están constituidas por una sola especie molecular. Las glucoproteínas de la capa S de bacterias grampositivas tienen estructuras similares a los lipopolisacáridos de bacterias gramnegativas (figura 2-12). La función de estas capas es incierta; no obstante, en algunos casos se ha observado que protegen a la célula de las enzimas de degradación de la pared, de la invasión por *Bdellovibrio bacteriovorus* (una bacteria predadora) y de los bacteriófagos. También desempeñan una función en el mantenimiento de la forma celular en algunas especies de arqueobacterias y pueden estar implicadas en la adherencia celular a la mayor parte de las superficies epidérmicas del huésped.



Figura 2-9. Formación y utilización de ácido poli β -hidroxibutírico en el *Bacillus megaterium* (1900 $\times$). **Izquierda:** Células cultivadas en glucosa y acetato para mostrar los gránulos (áreas claras). **Derecha:** Células del mismo cultivo después de 24 h más de incubación en presencia de una fuente de nitrógeno, pero sin fuente exógena de carbono. El polímero se ha metabolizado completamente. Fotomicrografía en contraste de fase tomada por el Dr. J.F. Wilkinson. (Reproducida con autorización de Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA: *The Microbial World*, 2nd ed. Copyright © 1963. Por permiso de Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, NJ.)

A. Envoltura celular grampositiva

La envoltura de las células grampositivas es relativamente simple; está constituida por 2 a 3 capas: la **membrana citoplásmica**, una **capa de peptidoglucano** gruesa; algunas bacterias poseen una **capa externa**, ya sea una **cápsula** o una **capa S**, más adelante se describe la estructura y la función de ellas.

B. La envoltura celular gramnegativa

Esta es una estructura muy compleja de múltiples capas (figura 2-21). La **membrana citoplásmica** (denominada **membrana interna** en las bacterias gramnegativas) está rodeada por una **capa laminar sencilla de peptidoglucano** a la cual está anclada una **capa compleja denominada membrana externa**. También puede estar presente una **cápsula** como envoltura más externa o una **capa S**. El espacio entre las membranas interna y externa se denomina **espacio periplásmico**.

Membrana citoplásmica

A. Estructura

La **membrana citoplásmica** de las bacterias (también conocida como **membrana celular**) es visible en las micrografías electrónicas de cortes bacterianos finos (figura 2-13). Es una "membrana unitaria" típica compuesta de fosfolípidos

y proteínas; la figura 2-14 ilustra un modelo de la organización de la membrana. Las membranas de las procariontes se distinguen de las de las células eucariontes por la ausencia de esteroides, con la única excepción de los micoplasmas que los incorporan en sus membranas, como el colesterol, cuando proliferan en un medio que contiene esteroides.

Invaginaciones contorneadas de la membrana citoplásmica forman estructuras especializadas denominadas **mesosomas** (figura 2-15). Hay dos tipos: los **mesosomas de tabique**, los cuales forman paredes transversales durante la división celular, y los **mesosomas laterales**. El **cromosoma bacteriano (DNA)** está adherido al mesosoma tabicado (véase División celular, más adelante). En bacterias con sistemas transportadores de electrones excepcionalmente activos se encuentran invaginaciones más extensas de la membrana citoplásmica en el interior del citoplasma (p. ej., en bacterias fotosintéticas y en las fijadoras de nitrógeno).

B. Función

Las principales funciones de la membrana citoplásmica son:

1) permeabilidad selectiva y transporte de solutos; 2) transporte de electrones y fosforilación oxidativa en especies aerobias; 3) excreción de exoenzimas hidrolíticas; 4) portar a las enzimas y a las moléculas que intervienen en la biosíntesis del DNA, de los polímeros de la pared celular y de los lípidos de la membrana y 5) portar a los receptores de membrana y otras proteínas quimiostáticas, así como otros sistemas sensores de transducción.

Por lo menos 50% de la membrana citoplásmica debe permanecer en estado semilíquido para que ocurra el crecimiento celular. A temperaturas bajas esto se logra principalmente mediante grandes aumentos en la síntesis y en la incorporación de ácidos grasos insaturados.

1. **Permeabilidad y transporte:** la membrana citoplásmica forma una barrera hidrófoba impermeable a la mayor parte de las moléculas hidrófilas. Sin embargo, existen varios mecanismos (**sistemas de transporte**) que permiten a la célula transportar nutrientes al interior y expulsar productos de desecho al exterior. Estos sistemas de transporte funcionan en contra de un gradiente de concentración para acumular a los nutrientes dentro de la célula, función que requiere alguna forma de energía. Existen cuatro mecanismos generales de transporte involucrados en la membrana: **difusión facilitada**, **transporte dependiente de unión a proteínas**, **transporte quimiosmótico** y **translocación de grupo**.

a. **Difusión facilitada:** éste es el único mecanismo que no requiere energía. Consiste en la difusión pasiva de un sustrato en contra de un gradiente de concentración. En consecuencia, el sustrato nunca alcanza una concentración interna mayor a la que existe fuera de la célula. El glicerol es uno de los pocos compuestos que entra a la célula por este mecanismo.

b. **Transporte dependiente de unión a proteínas:** en las bacterias gramnegativas, el transporte de muchos nutrientes se facilita por la presencia de **proteínas fijadoras** específicas en el espacio periplásmico. Estas proteínas funcionan al transferir el sustrato a ellas fijado (constante de disociación en el rango de 10^{-7} a 10^{-8} mol/L) a un complejo proteínico de transporte

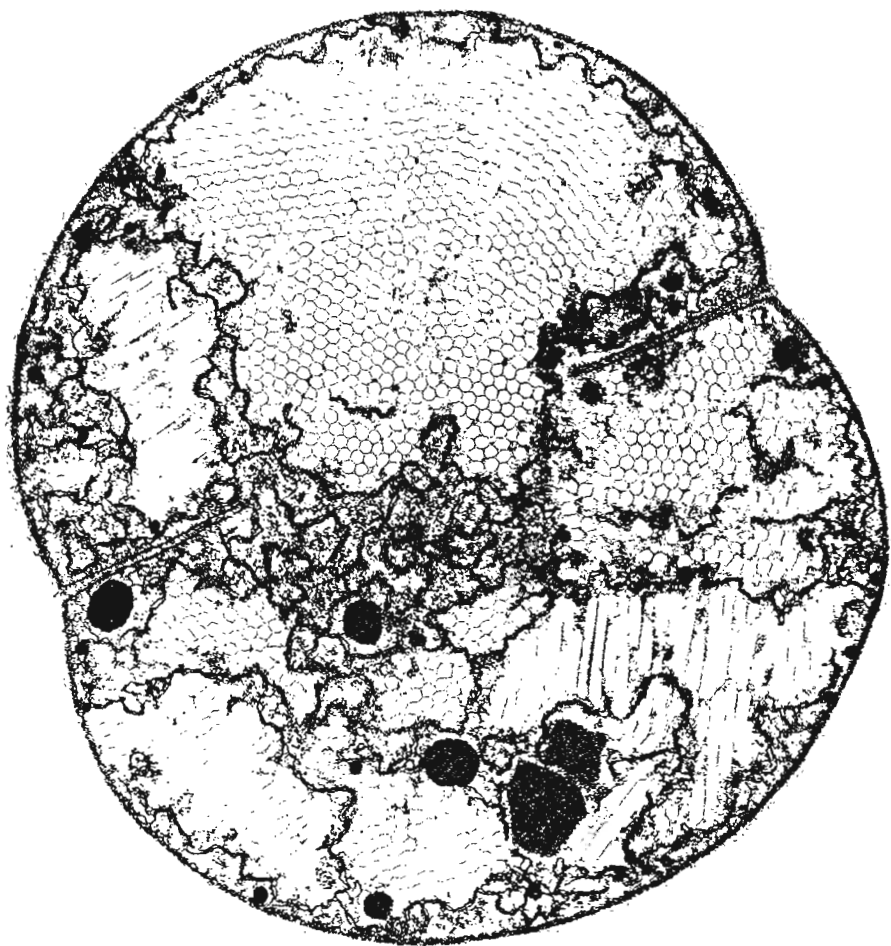


Figura 2-10. Corte transversal de una célula en división de la cianobacteria *Microcystis* que muestra un apilamiento hexagonal de vesículas cilíndricas de gas 31 500 $\times$. (Micrografía de HS Pankratz. Reproducida con autorización de Walsby AE: Gas vesicles, Microbiol Rev 1994;58:94.)

presente en la membrana y compatible con el sustrato. La energía se proporciona por el ATP u otro compuesto fosfatado abundante en energía, como el acetilfosfato. Estos sistemas se llaman "sensibles al choque" porque la suspensión de las células en amortiguador de glucosa a 10% que contenga EDTA, seguida de centrifugación y suspensión rápida en MgCl₂, frío, daña a la membrana externa y permite la salida de proteínas fijadoras. La *Escherichia coli* utiliza este mecanismo para transportar alrededor de 40% de sus sustratos.

c. **Transporte quimiosmótico:** estos sistemas llevan a una molécula a través de la membrana citoplásmica a expensas de un gradiente iónico previamente establecido como el **impulsado por protones** o el **impulsado por sodio**. Existen tres tipos básicos: **uniporte**, **simporte** y **antiporte** (figura 2-16). Casi 40% de los sustratos transportados por la *E. coli* utilizan mecanismos quimiosmóticos. Los uniporte catalizan el transporte de un sustrato, independientemente del ion al que se haya acoplado; los simporte catalizan el transporte simultáneo de dos

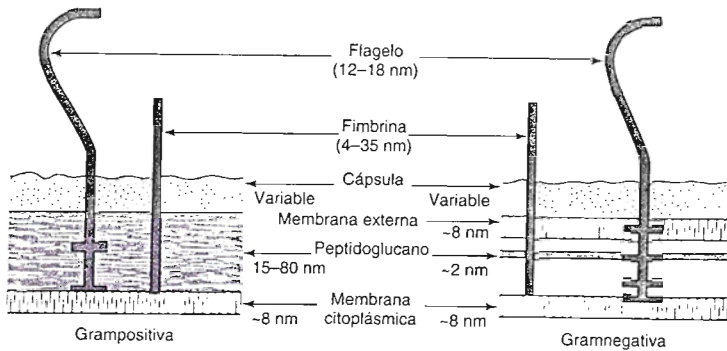


Figura 2-11. Comparación de las estructuras de la envoltura celular en las bacterias grampositivas y gramnegativas. La región entre la membrana citoplásmica y la membrana externa de la envoltura gramnegativa se denomina espacio periplásmico. (Reproducida con autorización de Ingraham JL, Maaloe O, Neidhardt FC: *Growth of the Bacterial Cell*. Sinauer Associates, 1983.)

sustratos en la misma dirección por un solo portador. Por ejemplo, un gradiente de H^+ puede permitir el simporte de un ion con carga contraria (p. ej., glicina) o una molécula neutra (p. ej., galactosa); los antiportes catalizan el transporte simultáneo de dos

compuestos con carga semejante y en direcciones opuestas mediante un solo portador (p. ej., H^+Na^+).

- d. Translocación de grupo:** además del transporte verdadero, en el que un soluto se transporta a través de la membrana sin sufrir cambios estructurales, las bacterias llevan a cabo un proceso llamado **translocación de grupo** (metabolismo vectorial) para efectuar la captación neta de algunos azúcares (p. ej., glucosa y manosa) con la fosforilación del sustrato durante el transporte. Este proceso permite a la bacteria utilizar sus recursos energéticos eficientemente al acoplar el transporte con el metabolismo. Durante dicho proceso, primero se fosforila en el citoplasma una proteína portadora de la membrana a expensas de un fosfoenolpiruvato, luego la protei-

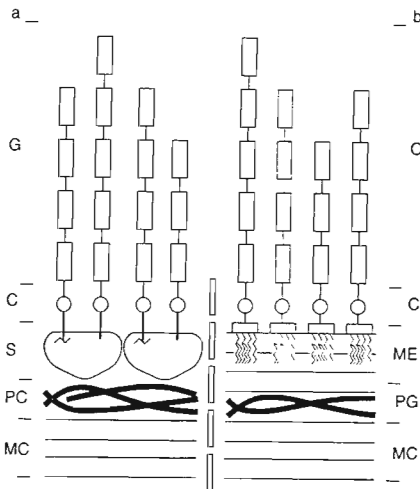


Figura 2-12. Dibujo esquemático de la composición de la envoltura celular de bacterias grampositivas (a) y gramnegativas (b), enfatizando las similitudes estructurales entre las glucoproteínas de la capa S y LPS. C, región central; MC, membrana citoplásmica; PC, pared celular; G, cadena de glucano; O, antígeno O; ME, membrana externa; PG, peptidoglucano; S, capa S (Reproducido con autorización de Mecer P: *Chemical composition and biosynthesis of S-layers*. En: Sleytr UB *et al.*: *Crystalline bacterial cell surface proteins*. R.G. Landes/Academic Press, 1996).

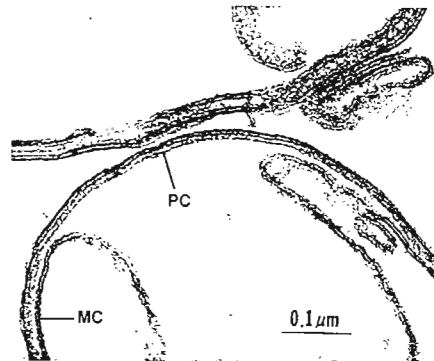


Figura 2-13. Membrana celular. Fragmentos de la membrana celular (MC) se observan adheridos a la pared celular (PC) en preparaciones de *Escherichia coli*. (Reproducida con autorización de Schnaitman CA: *Solubilization of the cytoplasmic membrane of Escherichia coli by Triton X-100*. J Bacteriol 1971;108:545.)

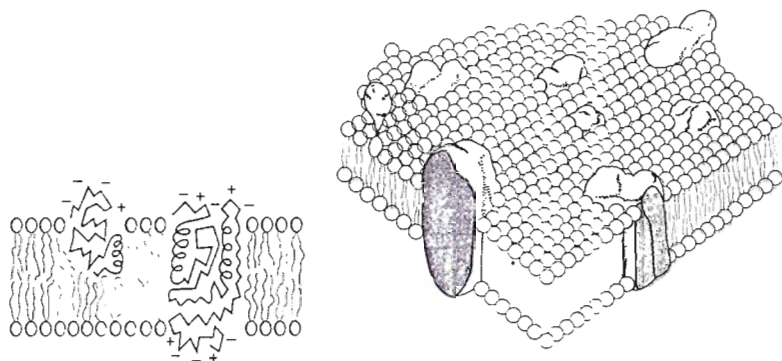


Figura 2-14. Un modelo de la estructura de la membrana. Se visualizan moléculas plegadas de polipéptidos insertadas en una doble capa de fosfolípidos con sus regiones hidrófilas que sobresalen hacia los espacios intracelular, extracelular o hacia ambos. (Reproducida con autorización de Singer SJ, Nicolson AL: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. Science 1972;175:720. Copyright © 1972 por la American Association for the Advancement of Science.)

na fosforilada enlaza un azúcar libre en la cara exterior de la membrana y le transporta al citoplasma para liberarlo como azúcar-fosfato. Los sistemas que transportan a los azúcares se llaman **sistemas de fosfotransferasa**; participan también en el movimiento hacia esas fuentes de carbono (**quimiotaxia**) y en la regulación de otras vías metabólicas (**represión catabólica**).

En la *Escherichia coli* el transporte del ion potasio se utiliza para regular la presión de turgencia. Un aumento en la osmolaridad externa, a una concentración constante de K^+ , activa la expresión de los genes que codifican la síntesis de un conjunto de proteínas transportadoras de K^+ e incrementa la actividad de dichas proteínas.

2. **Transporte de electrones y fosforilación oxidativa:** los citocromos, otras enzimas y componentes de la cadena respiratoria, incluso algunas deshidrogenasas, se encuentran en la membrana citoplásmica. La membrana citoplásmica bacteriana constituye, por tanto, un análogo funcional de la membrana mitocondrial —una interrelación que algunos biólogos han tomado para sostener la teoría de que las mitocondrias han evolucionado a partir de bacterias simbióticas. El mecanismo por el cual la síntesis del ATP se acopla al transporte de electrones se comenta en el capítulo 6.
3. **Excreción de exoenzimas hidrolíticas y proteínas de patogenicidad:** todos los microorganismos que dependen de los polímeros orgánicos macromoleculares como fuente de nutrientes (p. ej., proteínas, polisacáridos, lípidos) excretan enzimas hidrolíticas que degradan a los polímeros en subunidades lo suficientemente pequeñas como para penetrar la membrana citoplásmica. Los animales superiores secretan estas enzimas hacia la luz del aparato digestivo; las bacterias las excretan directamente hacia el medio exterior (en el caso de las células grampositivas), o hacia el espacio (periplásmico) entre la envoltura de peptidoglucano y la membrana exterior



Figura 2-15. Mesosomas de tabique. Un mesosoma de este tipo se forma como pliegue concéntrico de la membrana plasmática, es decir, se invagina. El nuevo tabique transversal se observa en formación en la base del mesosoma concéntrico. La división celular ocurriría por fusión de las capas de la membrana que rodean al mesosoma. (Reproducida con autorización de Ellar DJ, Lundgren D, Slepceky RA: Fine structure of *Bacillus megaterium* during synchronous growth. J Bacteriol 1967;84:1189.)

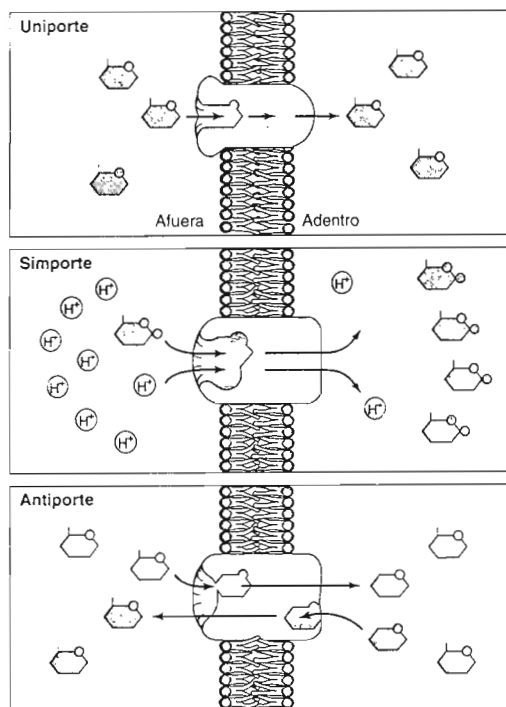


Figura 2-16. Tres tipos de portes: uniportes (arriba), simportes (en medio) y antiportes (abajo). Los uniportes catalizan el transporte de una sola especie independientemente de cualquier otra; los simportes catalizan el cotransporte de dos especies diferentes (generalmente un soluto y un ion cargado positivamente, H^+) en la misma dirección, y los antiportes catalizan el intercambio de dos solutos similares en direcciones opuestas. Una sola proteína de transporte puede catalizar uno de estos procesos, dos de ellos o aun los tres, según las condiciones. Los uniportes, simportes y antiportes son similares estructuralmente, están relacionados evolutivamente y funcionan por mecanismos similares. (Reproducida con autorización de Saier MH Jr: Peter Mitchell and his chemiosmotic theories. ASM News 1997;63:13. Por permiso de J/B Woolsey Associates, LLC).

de la pared celular en las gramnegativas (véase Pared celular, más adelante).

Se han descrito cinco vías de secreción proteínica en bacterias gramnegativas, y se les denominó sistemas de secreción tipo I, tipo II, tipo III, tipo IV y tipo V. En la figura 2-17 se muestra un esquema general de estos sistemas. Las proteínas secretadas por las vías del tipo I y III atraviesan la membrana interna (MI) y la membrana externa (ME) en un paso; mientras que las proteínas secretadas por las vías del tipo II y V cruzan la membrana interna y la externa en pasos separados. Las proteínas secretadas a través de las vías tipo II y tipo V se sintetizan en los ribosomas citoplásmicos como preproteínas que portan una **secuencia líder o secuencia señal** de 15 a 40 aminoácidos—lo más común son 30 aminoácidos— en la región amino terminal, y requiere el sistema *sec* para su transporte a través de la membrana interna (citoplásmica). En *Escherichia coli*, la vía *sec* comprende muchas proteínas de

membrana interna (SecD a SecF, SecY), una ATPasa citoplásmica unida a membrana (SecA) que proporciona la energía para el transporte hacia el exterior, una **chaperona** (SecB) que se une a la preproteína, y una señal para la acción de una peptidasa periplásmica. Después de la translocación, la secuencia líder se rompe gracias a la acción de la peptidasa señal unida a membrana y, así, la proteína madura se libera hacia el espacio periplásmico. Por el contrario, las proteínas secretadas por los sistemas de los tipos I y III no tienen una secuencia guía y son exportadas intactas.

Aunque las proteínas secretadas por los sistemas de los tipos II y V son semejantes en cuanto al mecanismo por medio del cual cruzan la membrana interna, existen diferencias en la forma como atraviesan la membrana externa. Las proteínas secretadas por el sistema tipo II son transportadas al otro lado de la membrana externa por un complejo multiproteínico (figura 2-17). Esta es la vía principal para la secreción de enzimas

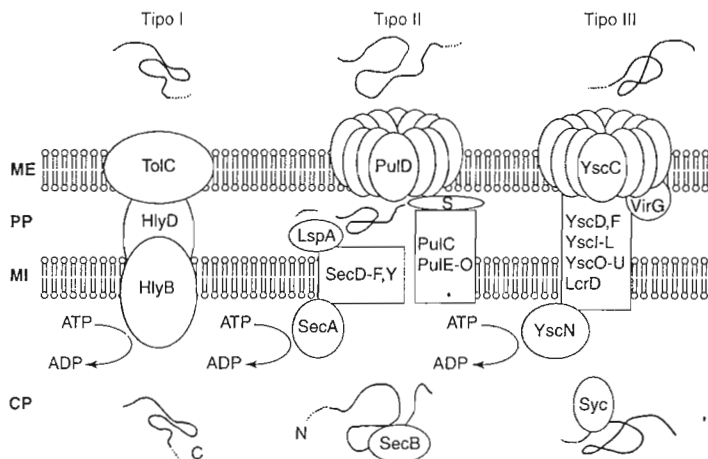


Figura 2-17. Esquema general de los sistemas de secreción tipos I, II y III, ejemplificados mediante la secreción de α -hemolisina por *E. coli* (tipo I), secreción de pululanasa por *Klebsiella oxytoca* (tipo II) y secreción de Yop por *Yersinia* (tipo III). ME, membrana externa; PP, periplasma; MI, membrana interna; CP, citoplasma. También se indica la hidrólisis de ATP por parte de HlyB, SecA y YscN. La localización de las señales de secreción se muestra en las proteínas secretadas (sombreadas). N, amino terminal; C, carboxilo terminal. Para la secreción tipo III, la señal de secreción puede residir en la región 5' del mRNA codificadora de la proteína secretada. Las secreciones tipos I y II implican la participación de chaperonas citoplásmicas (SecB y Syc, respectivamente) que se unen a proteínas presecretoras. En la secreción tipo II, la secuencia señal en la terminal amino se rompe por acción de una peptidasa periplásmica (LspA) después del transporte externo de la proteína a través del sistema sec. La secreción tipos II y III comparten un componente multimérico de membrana externa (PulD, YscC), en tanto que las proteínas accesorias S y VirG, que facilitan la inserción a la membrana externa de PulD y YscC respectivamente, difieren en los dos sistemas. (Cortesía de Hueck CJ: Microbiol Mol Biol Rev 1998;62:379.)

degradadoras extracelulares por bacterias gramnegativas. La elastasa, la fosfolipasa C y la endotoxina A son secretadas por este sistema en la *Pseudomonas aeruginosa*. Sin embargo, las proteínas secretadas por el sistema tipo V autotransportan a través de la membrana externa por medio de una secuencia carboxilo terminal, la cual es removida por enzimas en el momento de liberar la proteína desde la membrana externa. Algunas proteínas extracelulares, por ejemplo, la IgA proteasa de la *Neisseria gonorrhoeae* y la citotoxina vacuolizante del *Helicobacter pylori*, son excretadas por este sistema.

Las vías de secreción tipos I y III son independientes del sistema sec y, por tanto, no involucran el procesamiento en otro terminal amino de las proteínas secretadas. La secreción proteínica a través de estas vías se lleva a cabo mediante un proceso continuo sin intermediario periplásmico. La secreción tipo I se ejemplifica con la α -hemolisina de *Escherichia coli* y la adeniliciclase de *Bordetella pertussis*. La secreción tipo I requiere tres proteínas secretoras: una ATPasa de transporte de membrana interna (para suministrar la energía necesaria para la secreción proteínica); una proteína de membrana externa; y una proteína de fusión de membrana, la cual se encuentra anclada a la membrana interna y se proyecta hacia el espacio periplásmico (figura 2-17). En lugar de un péptido señal, la información se

localiza dentro de una secuencia de 60 aminoácidos en la región carboxilo terminal de la proteína secretada.

El aparato de secreción tipo III se compone aproximadamente de 20 proteínas, la mayoría de las cuales se localizan en la membrana interna y muestran homología con el aparato de biosíntesis flagelar de bacterias grampositivas y gramnegativas. Como sucede en la secreción tipo I, las proteínas secretadas a través de la vía tipo III no se someten a procesamiento de la terminal amino durante la secreción.

Las vías tipo IV secretan ya sea toxinas polipeptídicas (dirigidas en contra de células eucariotes) o complejos proteínicos de DNA ya sea entre dos células bacterianas o entre una célula bacteriana y una célula eucariote. La secreción tipo IV es ejemplificada por el complejo proteínico de DNA producido por *Agrobacterium tumefaciens* dentro de una célula vegetal. Además, la *Bordetella pertussis* y el *Helicobacter pylori* poseen sistemas de secreción tipo IV que median la secreción de la toxina pertussis y el factor inductor de la interleucina 8, respectivamente.

4. **Funciones biosintéticas:** la membrana citoplásmica es el asiento de los portadores lipídicos, sobre los cuales se ensamblan las subunidades de la pared celular (véase Síntesis de la pared celular, capítulo 6), así como de las enzimas de la biosíntesis de dicha pared. Las enzimas de la síntesis de los fosfolípidos también se localizan en esta

membrana. Por último, algunas proteínas del complejo replicador del DNA se encuentran en sitios distintos de la membrana, presumiblemente en los mesosomas de tabique a los cuales se adhiere el DNA.

5. **Sistemas quimiotácticos:** sustancias atrayentes y repelentes se unen a receptores específicos en la membrana bacteriana (véase Flagelos, más adelante). Existen por lo menos 20 quimiorreceptores diferentes en la membrana de la *E. coli*, algunos de los cuales funcionan como un primer paso en el proceso de transporte.

C. Antibacterianos que afectan a la membrana celular

Los detergentes que contienen grupos lipófilos e hidrófilos fragmentan las membranas citoplásmicas y destruyen a la célula (capítulo 4). Un tipo de antibiótico, las polimixinas, consiste en péptidos cíclicos semejantes a detergentes, los cuales dañan selectivamente a las membranas que contienen fosfatidiletanolamina, un componente principal de las membranas bacterianas. Varios antimicrobianos interieren específicamente con funciones biosintéticas de las membranas citoplásmicas, por ejemplo, el ácido nalidíxico y la novobiocina inhiben la síntesis del DNA, y esta última inhibe además la síntesis del ácido teicoico.

Una tercera clase de agentes que actúan a nivel de membrana son los ionóforos, compuestos que permiten la rápida difusión de cationes específicos a través de la membrana. Por ejemplo, la valinomicina media específicamente el paso de los iones de potasio. Algunos ionóforos forman poros hidrófilos en la membrana; otros actúan como portadores iónicos liposolubles que se comportan como si se movieran alternadamente hacia afuera y adentro de la membrana. Los ionóforos pueden destruir a la célula al descargar el potencial de membrana, el cual es esencial para la fosforilación oxidativa, así como para otros procesos regulados por la membrana; no son selectivos para las bacterias, sino que actúan sobre la membrana de todas las células.

Pared celular

Las capas de la envoltura celular ubicadas entre la membrana citoplásmica y la cápsula se conocen colectivamente como la "pared celular". En las bacterias grampositivas está constituida principalmente por peptidoglucano y ácido teicoico (véase después); en las gramnegativas, la pared celular incluye al peptidoglucano y a la membrana externa.

La presión osmótica interna de la mayor parte de las bacterias fluctúa entre 5 a 20 atm como resultado de una concentración de solutos adquiridos mediante transporte activo. En casi todos los medios esta presión sería suficiente para hacer estallar a la célula si no fuese por la presencia de una pared celular con enorme resistencia a la tensión (figura 2-18). La pared celular bacteriana debe su resistencia a una envoltura compuesta por una sustancia denominada mureína, mucopéptido o peptidoglucano (todos son sinónimos). La estructura del peptidoglucano se describe más adelante.

Las bacterias se clasifican como grampositivas o gramnegativas según su respuesta a la técnica de tinción de Gram. Este procedimiento de tinción diferencial, denominado así

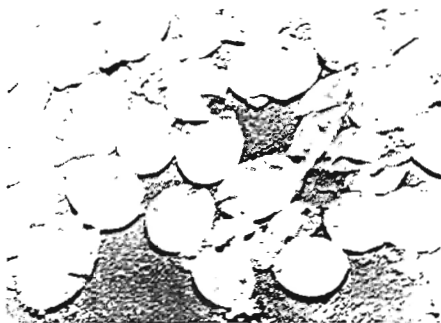


Figura 2-18. Paredes celulares del *Streptococcus faecalis* separadas de los protoplastos por desintegración mecánica y centrifugación diferencial (11 000 x). (Cortesía de Salton M, Home R: Biochem Biophys Acta 1951;7:177.)

por el histólogo Hans Christian Gram, quien lo desarrolló en un intento por teñir bacterias en los tejidos infectados. Las células se tiñen primero con cristal violeta y yodo y luego se lavan con acetona o alcohol. El último paso decolora a una bacteria gramnegativa, pero no a una grampositiva.

La diferencia entre ambas bacterias reside en la pared celular: las grampositivas pueden decolorarse con la adición de acetona o alcohol si se les quita la pared celular después de la tinción, pero antes del lavado. Aunque la composición química de las paredes de estas bacterias se conoce bastante bien (véase después), todavía no está claro cuál es la razón por la que las paredes de las células grampositivas bloquean la extracción del colorante.

Además de la protección osmótica que proporciona, la pared celular desempeña una función esencial en la división celular y actúa también como un primordio para su propia biosíntesis. Varias capas de la pared son los sitios de importantes determinantes antigénicos y un componente (el lipopolisacárido de las paredes celulares gramnegativas) es responsable de la actividad inespecífica de endotoxina de la bacteria gramnegativa. En general, la pared celular tiene permeabilidad inespecífica; sin embargo, una capa de la pared de las células gramnegativas, la membrana externa, impide el paso de moléculas relativamente grandes (véase después).

La biosíntesis de la pared celular y los antibióticos que interfiere con este proceso se describen en el capítulo 6.

A. Capa de peptidoglucano

Este es un polímero complejo que consta, para fines descriptivos, de tres partes: una columna vertebral compuesta de *N*-acetilglucosamina y ácido *N*-acetilmurámico alternados; un grupo de cadenas tetrapeptídicas laterales idénticas adheridas al ácido *N*-acetilmurámico y un conjunto de puentes peptídicos transversales también idénticos (figura 2-19). La columna vertebral es la misma en todas las especies bacterianas: las cadenas tetrapeptídicas laterales y los puentes peptídicos transversales varían de especie a especie; en la figura 2-19 se presentan estas estructuras en el *Staphylococcus aureus*. En muchas paredes celulares de especies gramnegativas el puente transversal está formado por una unión peptídica directa entre el grupo amino del ácido dia-

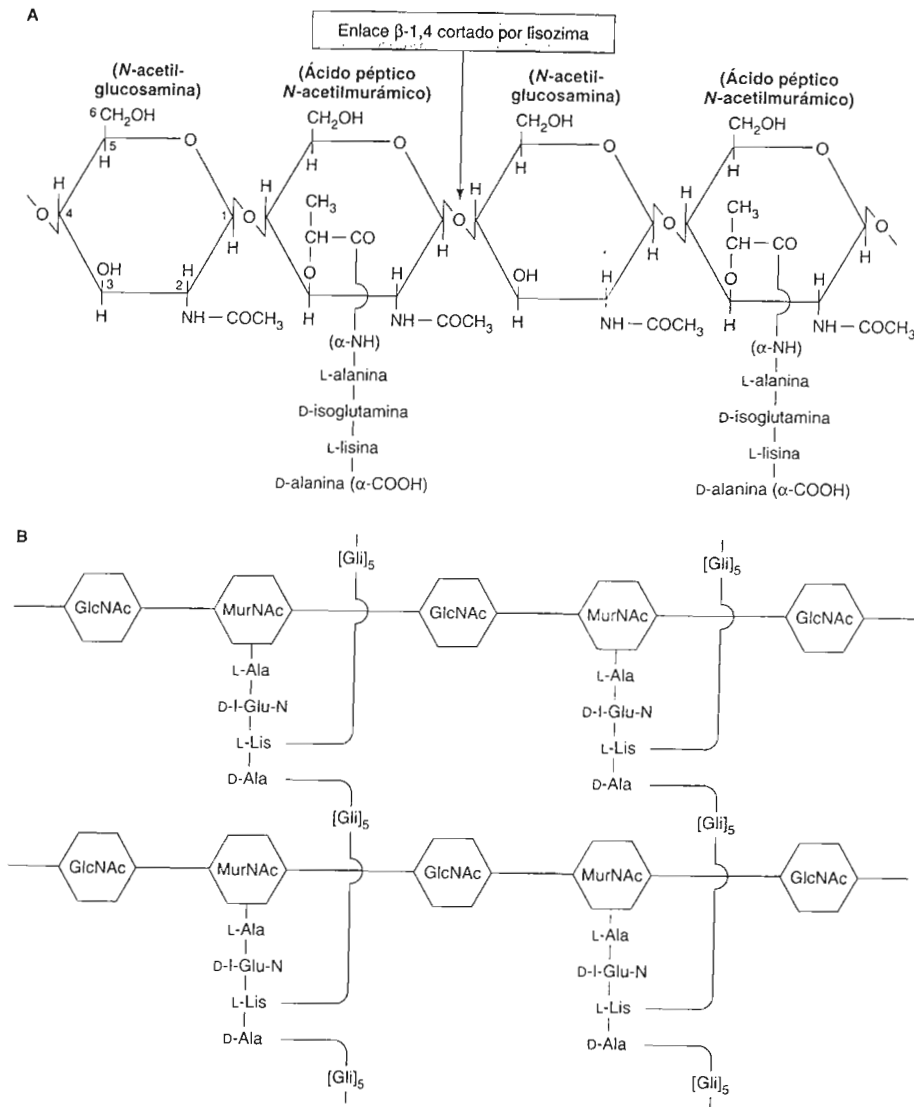


Figura 2-19. A: un segmento del peptidoglucano del *Staphylococcus aureus*. La columna vertebral del polímero consta de unidades alternas de *N*-acetilglucosamina y de ácido *N*-acetilmurámico conectadas por enlaces $\beta \rightarrow 1,4$. Los residuos de ácido murámico están enlazados a péptidos cortos, cuya composición varía de una especie bacteriana a otra. En algunas especies, los residuos de *L*-lisina se reemplazan por el ácido diaminopimérico, aminoácido que se encuentra en la naturaleza sólo en las paredes de las células procariontes. Nótese los *D*-aminoácidos que también son constituyentes característicos de las células procariontes. Las cadenas peptídicas del peptidoglucano están entrecruzadas por cadenas paralelas de polisacáridos, como se muestra en la figura 2-15B. **B:** representación esquemática de la malla de peptidoglucano formada por los enlaces cruzados. Puentes compuestos de cadenas peptídicas de pentaglicina conectan el α -carboxilo del residuo terminal de la *D*-alanina de una cadena con el grupo ϵ -amino del residuo de la *L*-lisina de la cadena siguiente. La naturaleza de los puentes cruzados de enlace varía entre las diferentes especies.

minopimélica (ADP) de una cadena lateral y el grupo carboxilo de la D-alanina terminal de una segunda cadena lateral.

Las cadenas tetrapeptídicas laterales de todas las especies tienen, no obstante, ciertas características importantes en común. Casi todas tienen L-alanina en la posición 1 (adherida al ácido N-acetilmurámico); D-glutamato o algún sustituto en la posición 2; y D-alanina en la posición 4. La posición 3 es la más variable. La mayor parte de las bacterias gramnegativas tiene ácido diaminopimélico en esta posición, al cual se liga la lipoproteína de la pared celular descrita adelante. Las bacterias grampositivas pueden tener ácido diaminopimélico, L-lisina, o cualquiera de otros L-aminoácidos en la posición 3.

El ácido diaminopimélico es un elemento singular en las paredes de las células procariontes y el precursor inmediato de la lisina en la biosíntesis bacteriana de dicho aminoácido (figura 6-23). Los mutantes bacterianos bloqueados en la vía biosintética antes del ácido diaminopimélico crecen normalmente cuando se les adiciona este ácido en el medio; pero se lisan al administrárseles sólo L-lisina, ya que continúan su crecimiento, pero están incapacitados para sintetizar específicamente nuevo peptidoglucano de la pared celular.

El hecho de que todas las cadenas de peptidoglucano estén unidas transversalmente significa que cada capa de peptidoglucano es una sola molécula gigante. En las bacterias grampositivas pueden haber hasta 40 capas de peptidoglucano, el cual representa más de 50% del material de la pared celular; en las gramnegativas al parecer sólo existen 1 o 2 capas que constituyen de 5 a 10% del material de la pared. Las bacterias deben su forma, característica en algunas especies en particular, a la estructura de sus paredes celulares.

Varios grupos procariontes, denominados colectivamente arqueobacterias, carecen de la capa de peptidoglucano. En algunas especies dentro de este grupo existe un

polímero semejante que contiene azúcares N-acetilo y tres L-aminoácidos; carece de ácido murámico y D-aminoácidos. Otras arqueobacterias, en cambio, tienen una envoltura proteínica. Estos microorganismos muestran también diferencias importantes en sus lípidos y en sus RNA (capítulo 1).

B. Componentes especiales de las paredes celulares grampositivas

La mayor parte de las paredes celulares grampositivas contiene considerables cantidades de ácidos teicoico y teicurónico, los cuales representan hasta 50% del peso seco de la pared y 10% del peso seco total de la célula. Además, algunas paredes grampositivas pueden contener moléculas de polisacáridos.

1. **Ácidos teicoico y teicurónico:** éstos son polímeros hidrosolubles que contienen ribitol o residuos de glicerol unidos por enlaces fosfodiéster y que tienen uno o más aminoácidos o azúcares sustitutos (figura 2-20A). Hay dos tipos de ácidos teicoicos: el ácido teicoico de la pared, unido de manera covalente al peptidoglucano, y el ácido teicoico de la membrana (ácido lipoteicoico), unido por covalencia al glucolípido de la membrana y concentrado en los mesosomas. Algunas especies grampositivas carecen de ácidos teicoicos de la pared, pero al parecer todas contienen ácidos teicoicos de la membrana.

Los ácidos teicoicos son importantes antígenos de superficie en las especies grampositivas que los poseen, y su accesibilidad a los anticuerpos se ha considerado como evidencia de que se encuentran en la superficie exterior de la capa del peptidoglucano. Sin embargo, a menudo su actividad se incrementa por la digestión parcial del peptidoglucano; de aquí que la mayor parte del ácido teicoico se puede encontrar entre la membrana citoplásmica y la capa de peptidoglucano para ex-

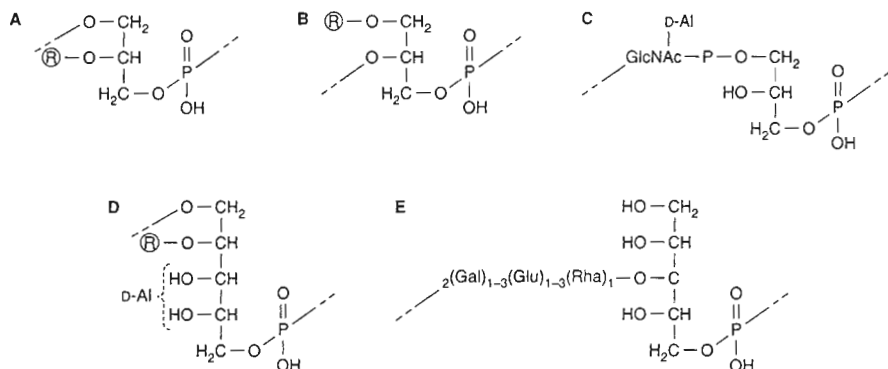


Figura 2-20A. Unidades repetitivas de algunos ácidos teicoicos. **A:** ácido glicerolteicoico del *Lactobacillus casei* 7469 (R = D-alanina). **B:** ácido glicerolteicoico del *Actinomyces antibioticus* (R = D-alanina). **C:** ácido glicerolteicoico del *Staphylococcus aureus* 13. La D-alanina se presenta en la posición 6 de la N-acetilglucosamina. **D:** ácido ribitol teicoico del *Bacillus subtilis* (R = glucosa) y del *Actinomyces streptomycine* (R = succinato). (La D-alanina está adherida en la posición 3 o 4 del ribitol. **E:** ácido ribitol teicoico de la cápsula del neumococo tipo 6. (Reproducida con autorización de Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA: *The Microbial World*, 2nd ed. Copyright © 1963. Por permiso de Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ.)

tenderse posiblemente hacia arriba a través de los poros de esta última (figura 2-20B). En el neumococo (*Streptococcus pneumoniae*), los ácidos teicoicos llevan los determinantes antigénicos denominados antígenos de Forssman. En el *Streptococcus pyogenes*, el ácido lipoteicoico se relaciona con la proteína M que protruye al exterior desde la membrana celular a través de la capa de peptidoglucano. La proteína M de gran peso molecular, junto con el ácido lipoteicoico, forman las microfibrillas que facilitan la adhesión del *S. pyogenes* a las células animales.

Las unidades repetitivas de algunos ácidos teicoicos se muestran en la figura 2-20A. Las unidades repetidas pueden ser glicerol unido por enlaces 1,3 o 1,2; ribitol, unido por enlaces 1,5; o unidades más complejas en las cuales el glicerol o el ribitol están ligados a residuos de azúcar como glucosa, galactosa o *N*-acetilglucosamina. Las cadenas pueden tener una longitud de 30 o más unidades repetidas, aunque son comunes las cadenas de 10 o menos.

La mayor parte de los ácidos teicoicos contiene grandes cantidades de *D*-alanina ligada generalmente a la posi-

ción 2 o 3 del glicerol o en la posición 3 o 4 del ribitol. Sin embargo, en algunos de los ácidos teicoicos más complejos, la *D*-alanina está adherida a uno de los residuos de azúcar. Además de la *D*-alanina, otros sustitutos pueden estar adheridos a los grupos hidroxilo libres del glicerol y del ribitol: por ejemplo, glucosa, galactosa, *N*-acetilglucosamina, *N*-acetilgalactosamina, o succinato. Una especie dada puede tener más de un tipo de azúcar sustituto además de la *D*-alanina; en tales casos no se sabe si los diferentes azúcares se presentan sobre la misma molécula o en moléculas separadas del ácido teicoico. La composición de este ácido, sintetizado por una especie bacteriana determinada, puede variar de acuerdo con la composición del medio de cultivo.

La función de los ácidos teicoicos aún es tema de especulación. Los ácidos teicoicos enlazan al ion magnesio e intervienen en el suministro de éste a la célula. También intervienen en el funcionamiento normal de la envoltura celular; así, el reemplazo de la colina por la etanolamina como componente del ácido teicoico de los neumococos hace que las células sean resistentes a la autólisis y pierdan su capacidad de incorporar DNA transformante (capítulo 7). Investigaciones recientes de la fracción periplásmica del *Bacillus subtilis* han llevado a especular que el ácido teicoico de la pared proporciona una barrera externa a la permeabilidad en las bacterias grampositivas para funcionar como un equivalente de la membrana externa de las bacterias gramnegativas (véase después). Los ácidos teicoicos de membrana pueden servir para anclar la pared a la membrana celular subyacente.

Los ácidos teicúricos también son polímeros, pero en las unidades repetidas hay azúcares ácidos (como el ácido *N*-acetilmanosurónico o el *D*-glucosurónico) en lugar de ácidos fosfóricos. Estos compuestos se sintetizan en lugar de los ácidos teicoicos cuando está limitada la existencia de fosfatos.

2. **Polisacáridos:** la hidrólisis de las paredes grampositivas ha proporcionado, en ciertas especies, azúcares neutros tales como manosa, arabinosa, galactosa, ramnosa y glucosalina, y azúcares ácidos como el glucurónico y el manurónico. Se ha propuesto que estos azúcares existen como subunidades de polisacáridos en la pared celular; sin embargo, el descubrimiento de que los ácidos teicoicos y teicúricos pueden contener varios azúcares (figura 2-20A) deja en duda su origen verdadero.

C. Componentes especiales de las paredes celulares gramnegativas

Las paredes celulares de las bacterias gramnegativas contienen tres componentes que yacen exteriores a la capa de peptidoglucano: lipoproteína, membrana externa y lipopolisacárido (figura 2-21).

1. **Lipoproteína:** las moléculas de una lipoproteína poco común sirven para entrecruzar las capas de la membrana exterior y del peptidoglucano. La lipoproteína contiene 57 aminoácidos que representan repeticiones de una secuencia de 15 aminoácidos; es un péptido enlazado a los residuos de ácido diaminopimélico de las cadenas tetrapeptídicas laterales del peptidoglucano. El

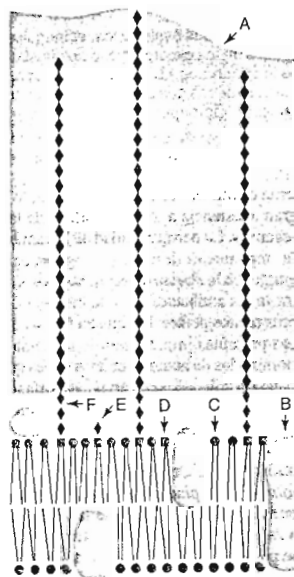


Figura 2-20B. Ácidos lipoteicoicos. Modelo de la pared celular y de la membrana de una bacteria grampositiva para mostrar las moléculas del ácido lipoteicoico en extensión a lo ancho de la pared celular. Los ácidos teicoicos de la pared, unidos por enlaces covalentes a residuos de ácido murámico de la capa de peptidoglucano, no se observan en este esquema. A = pared celular; B = proteína; C = fosfolípido; D = glucolípido; E = fosfatidilglucolípido; F = ácido lipoteicoico. (De Van Driel D *et al.*: Cellular location of the lipoteicoic acids of *Lactobacillus fermenti* NCTC 6991 y *Lactobacillus casei* NCTC 6375. J Ultrastruct Res 1971;43:483.)

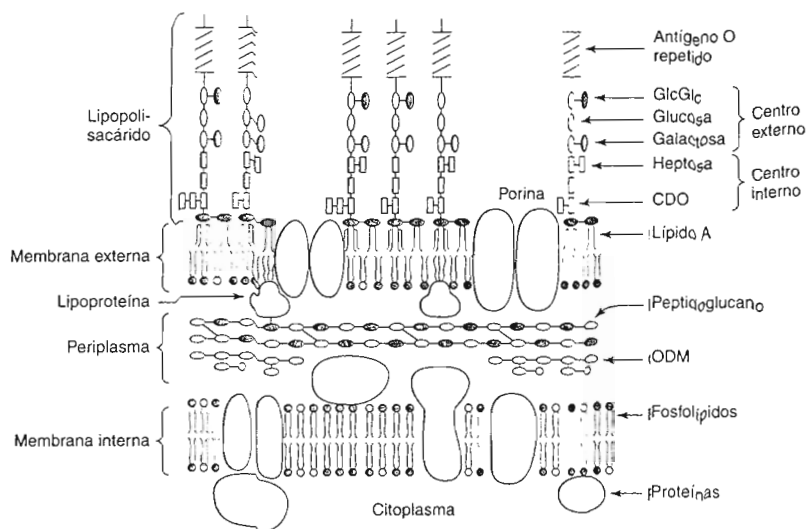


Figura 2-21. Representación molecular de la envoltura de una bacteria gramnegativa. Los óvalos y los rectángulos representan residuos de azúcares, mientras que los círculos describen las cabezas polares de los glicerofosfolípidos (fosfatidiletanolamina en rojo y fosfatidilglicerol en blanco). (ODM, oligosacáridos derivados de la membrana.) La región central mostrada es la de la *E. coli* K-12, una cepa que normalmente no contiene un antígeno O repetido a menos que se transforme con un plásmido apropiado. (Reproducido con autorización de Raetz CRH: Bacterial endotoxins: Extraordinary lipids that activate eucaryotic signal transduction. *J Bacteriol* 1993;175:3745.)

componente lipídico, que consiste en un diglicérido tioéter ligado a una cisteína terminal. Se inserta de manera no covalente en la membrana externa. La lipoproteína es numéricamente la proteína más abundante de las células gramnegativas ($\approx 700\,000$ moléculas por célula). Su función (inferida del comportamiento de las mutantes que no la poseen) consiste en estabilizar la membrana externa y fijarla en la capa del peptidoglucano.

2. **Membrana externa:** la membrana externa es una estructura de dos capas; su hoja interna se asemeja en composición a la de la membrana citoplásmica, mientras los fosfolípidos de la hoja externa son sustituidos por moléculas de **lipopolisacárido** (véase después). Como resultado, las capas de esta membrana son asimétricas, y las propiedades de esta bicapa difieren considerablemente de las de una membrana biológica simétrica, como la membrana citoplásmica.

La capacidad de la membrana externa para excluir moléculas hidrófobas es una característica poco común entre las membranas biológicas y actúa para proteger a la célula (en el caso de las bacterias entéricas) de las sales biliares. Debido a su naturaleza lipídica, sería de esperarse que la membrana externa excluyera también a moléculas hidrófilas. Sin embargo, la membrana externa tiene canales especiales constituidos por moléculas de proteína denominadas **porinas**, que permiten la difusión pasiva de compuestos hidrófilos de bajo peso molecular como azúcares, aminoácidos y ciertos iones. Las moléculas grandes de antibióticos penetran la membra-

na externa de manera relativamente lenta, lo cual explica la gran resistencia a los antibióticos de las bacterias gramnegativas. La permeabilidad de la membrana externa varía ampliamente de una especie gramnegativa a otra; por ejemplo, en la *Pseudomonas aeruginosa*, que es muy resistente a los antibacterianos, la membrana externa es 100 veces menos permeable que en la *E. coli*.

Las proteínas importantes de la membrana externa, denominadas de acuerdo con los genes que las codifican, han sido colocadas en varias categorías funcionales con base en las mutantes en que están ausentes y en experimentos en los cuales proteínas purificadas se han reconstituido en membranas artificiales. Las porinas (ejemplificadas por *OmpC*, *D* y *F*, y *PhoE* de la *E. coli* y de la *Salmonella typhimurium*) son proteínas triméricas que penetran en ambas capas de la membrana externa (figura 2-22). Forman poros relativamente inespecíficos que permiten la libre difusión de pequeños solutos hidrófilos a través de la membrana. Las porinas de especies diferentes tienen también diferentes límites de exclusión, cuyos pesos moleculares van desde casi 600 en la *E. coli* y en la *S. typhimurium* a más de 3 000 en la *P. aeruginosa*.

Los miembros de un segundo grupo de proteínas de la membrana externa, que en muchos aspectos parecen porinas, se ejemplifican por *LamB* y *Tsx*. *LamB* es una porina inducible receptora del bacteriófago λ y es responsable de la mayor parte de la difusión transmembranal de la maltosa y de la maltodextrina; *Tsx*, el

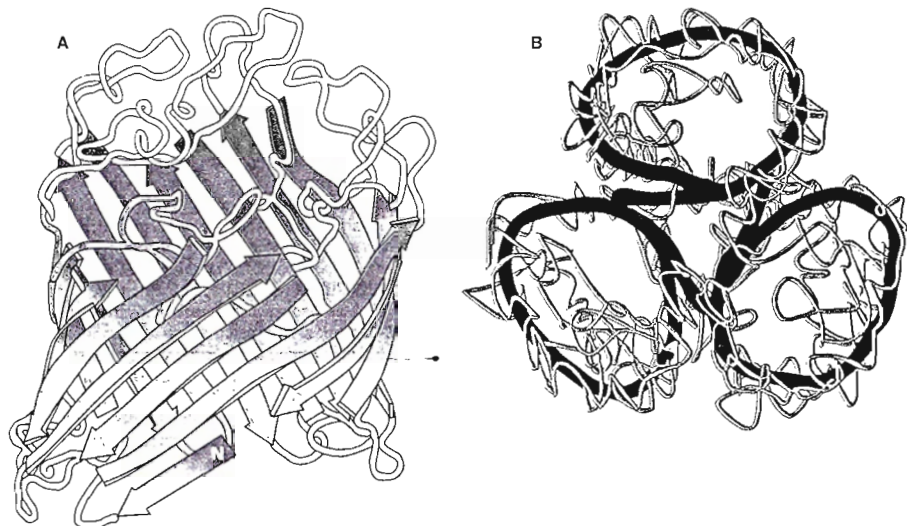


Figura 2-22. A: plegamiento general de un monómero de porina (porina OmpF de *E. coli*). La gran estructura en β barril con huecos se forma mediante una disposición antiparalela de las 16 cadenas β . Las cadenas se conectan a través de asas cortas o vueltas regulares en el borde periplásmico (fondo); en tanto que las asas irregulares largas encaran el exterior de la célula (arriba). El asa interna, que se conecta con las cadenas β 5 y 6 y se extiende dentro del barril, se resalta con un color más oscuro. Las terminales de la cadena también se indican en la figura. La superficie más cercana al observador interviene en los contactos entre las subunidades. **B:** representación esquemática del trimero OmpF. La vista es desde el espacio extracelular junto con el eje de simetría molecular en tres pliegues. (Reproducido con autorización de Shirmer T: General and specific porins from bacterial out membranes. *J Struct Biol* 1998;121:101.)

receptor para el bacteriófago T6, realiza la difusión transmembranal de nucleósidos y de algunos aminoácidos. Sin embargo, LamB permite algún paso de otros solutos, su especificidad relativa puede reflejar interacciones débiles de solutos con sitios de configuración específicos dentro del conducto.

La proteína OmpA es abundante en la membrana externa. Actúa como receptor de varios bacteriófagos y participa en la fijación de la membrana externa a la capa del peptidoglucano; también es el receptor de las fimbrias sexuales en la conjugación bacteriana mediada por elemento F (capítulo 7).

La membrana externa también contiene un conjunto de proteínas menos abundantes implicadas en el transporte de moléculas específicas, como la vitamina B_{12} , y los complejos de hierrosideróforo. Muestran una gran afinidad por sus sustratos y tal vez actúan como sistemas clásicos de transporte mediante portador de la membrana interna (citoplásmica). La función correcta de estas proteínas requiere energía acoplada a través de una proteína llamada TonB. Proteínas menores adicionales incluyen una cantidad limitada de enzimas, entre ellas fosfolipasas y proteasas, así como algunas proteínas fijadoras de penicilina.

La topología de las principales proteínas de la membrana externa, basada en estudios de unión cruzada y

análisis de interrelaciones funcionales, se presenta en la figura 2-21. La membrana externa está conectada tanto a la capa de mureína como a la membrana citoplásmica. La conexión con la capa de mureína está mediada principalmente por la lipoproteína de la membrana externa. Cerca de la tercera parte de las moléculas de lipoproteína está unida de manera covalente con la mureína y ayuda a conservar juntas a las dos estructuras. Una unión no covalente de algunas de las porinas con la capa de mureína desempeña una función de menor importancia en la conexión de la membrana externa con esta estructura. Las proteínas de dicha membrana se sintetizan en los ribosomas adheridos a la superficie citoplásmica de la membrana interna; aún no se sabe de qué manera se transfieren a la membrana externa, pero una hipótesis sugiere que la transferencia se produce en zonas de adhesión entre ambas, las cuales son visibles en el microscopio electrónico. Estas zonas de adhesión se conocen como "uniones Bayer", por su descubridor; existen alrededor de 200 de estas uniones por célula de *E. coli*.

3. **Lipopolisacárido (LPS):** el LPS de las paredes celulares de las bacterias gramnegativas es un complejo lipídico denominado lípido A, al cual se adhiere un polisacárido constituido por un centro y una serie terminal de unidades repetidas (figura 2-23A). El LPS está unido a la membrana externa de los ribosomas adheridos. Éste se sintetiza

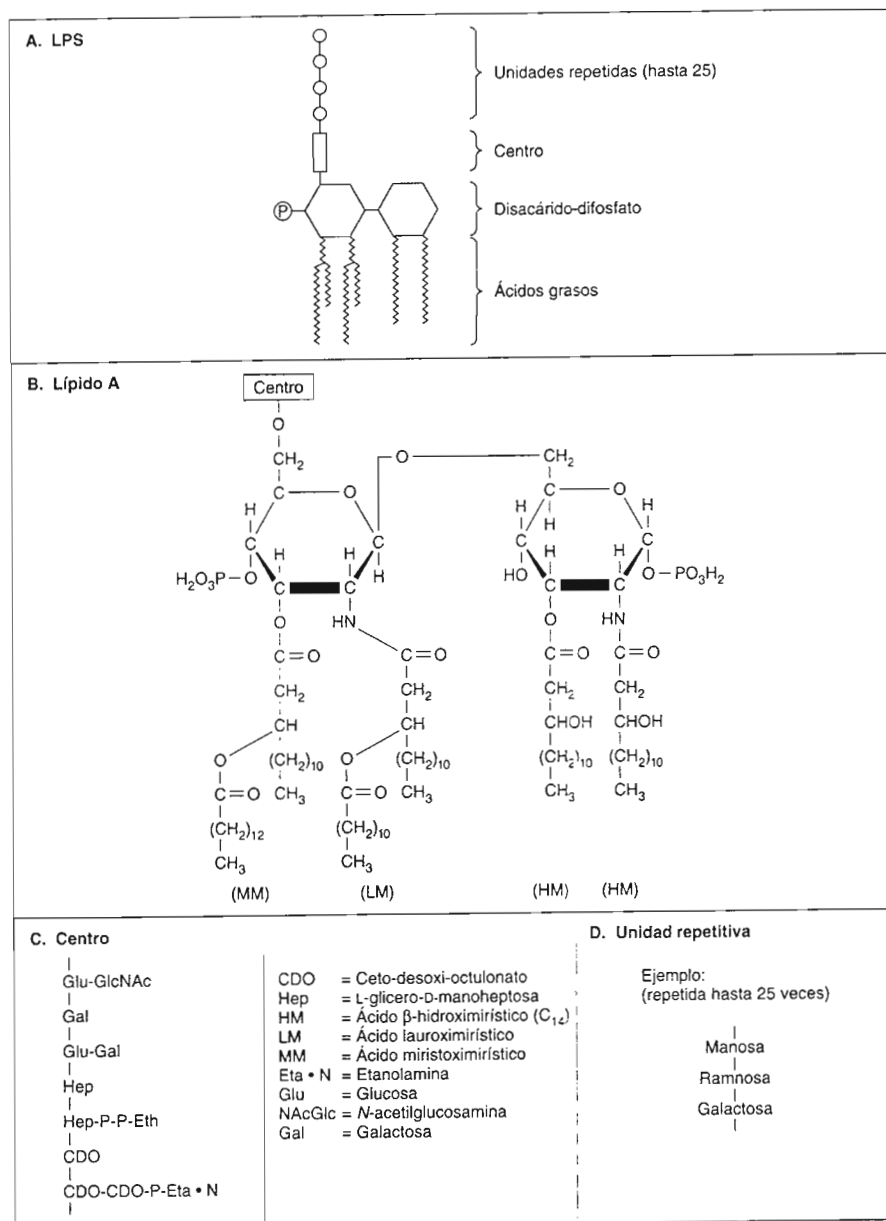


Figura 2-23. Lipopolisacárido de la cubierta gramnegativa. **A:** un segmento del polímero que muestra los arreglos de los principales constituyentes. **B:** la estructura del lípido A de la *Salmonella typhimurium*. **C:** centro del polisacárido. **D:** unidad típica repetitiva (*Salmonella* Newington). La especificidad serológica se determina, en parte, por el tipo de unión (α o β) entre cada monosacárido.

en la membrana citoplásmica y se transporta hasta su posición externa final. La presencia de LPS es necesaria para la función de muchas de las membranas proteínicas externas.

El **lípid A** consiste en unidades del disacárido glucosamina fosforilado al cual están unidos varios ácidos grasos de cadena larga (figura 2-23B). El ácido β hidroximiriístico, un ácido graso con 14 átomos de carbono siempre está presente y es exclusivo de este lípido; los otros ácidos grasos, junto con los grupos sustitutos en los fosfatos, varían según la especie bacteriana.

La porción central del polisacárido, que se muestra en la figura 2-23C, es similar en todas las especies gramnegativas que tienen LPS. Cada especie, sin embargo, contiene una unidad repetida única, como la de la *Salmonella* Newington que se muestra en la figura 2-23D. Las unidades repetidas generalmente son trisacáridos lineales, o tetra o pentasacáridos ramificados.

Las moléculas de LPS de carga negativa se unen de modo transversal de manera no covalente mediante cationes divalentes; esto estabiliza a la membrana y proporciona una barrera a las moléculas hidrófobas. La eliminación de los cationes divalentes con quelantes, o su desplazamiento por antibióticos policationicos como las polimixinas y los aminoglucoídos, hace permeable a la membrana externa a las moléculas hidrófobas grandes.

El LPS es muy tóxico para los animales; se le ha denominado la **endotoxina** de las bacterias gramnegativas debido a que está enlazado de modo firme a la superficie celular y sólo se libera cuando las células se lisan. Cuando el LPS se disocia en el lípido A y el polisacárido, toda la toxicidad está ligada al lípido A. Por otra parte, el polisacárido representa un antígeno importante de la superficie de la célula bacteriana denominado **antígeno O**. La especificidad antigénica está conferida por las unidades terminales de repetición que rodean a la célula para formar una capa de polisacáridos hidrófilos. El número de posibles tipos antigénicos es muy grande; solamente en *Salmonella* se han reconocido más de 1 000.

No todas las bacterias gramnegativas tienen membranas externas de LPS conformadas por un número variable de unidades repetidas de oligosacáridos (figura 2-23); los glucolípidos de la membrana externa de las bacterias que colonizan las superficies mucosas (p. ej., *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* y *H. ducreyi*) tienen glucanos relativamente cortos multiantenarios (es decir, ramificados). Estos glucolípidos más pequeños se han comparado con las estructuras de LPS truncado "tipo R", que carecen de antígenos O y son producidos por mutantes rugosos de bacterias entéricas como la *E. coli*. No obstante, sus estructuras se parecen más a los glucosfingolípidos de las membranas celulares de los mamíferos y se llaman más apropiadamente **lipooligosacáridos (LOS)**. Estas moléculas tienen una gran diversidad antigénica y estructural aun dentro de una misma cepa. LOS es un factor de virulencia importante. Se han identificado epítomos en los que semejan estructuras del huésped y pueden hacer a estos microorganismos capaces de evadir la respuesta inmunitaria de éste. Algunos LOS (p.

ej., los de *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* y *H. ducreyi*) tienen un residuo terminal de *N*-acetilglucosamina (Gal β 1-4-GlcNAc), el cual es inmunológicamente similar al precursor del antígeno i del eritrocito humano. En presencia de una enzima bacteriana conocida como sialiltransferasa y de un sustrato del huésped o de la bacteria (ácido monofosfo-*N*-acetilneuramínico citidina, CMP-NANA), se sialila el residuo *N*-acetilglucosamina. Esta sialilación, que ocurre *in vivo*, le da al microorganismo las ventajas ambientales del mimetismo molecular con un antígeno del huésped y del enmascaramiento biológico que se piensa proporcionan los ácidos siálicos.

4. **Espacio periplásmico:** el espacio entre la membrana interna y la externa, denominado espacio periplásmico, contiene la capa de mureína y una solución de proteínas similar a un gel. El espacio periplásmico es aproximadamente 20 a 40% del volumen celular. lo que está lejos de ser insignificante. Las proteínas periplásmicas incluyen proteínas de enlace para sustratos específicos (p. ej., aminoácidos, azúcares, vitaminas e iones), enzimas hidrolíticas (p. ej., fosfatasa alcalina y 5'-nucleotidasa) que fragmentan sustratos no transportables y los convierten en transportables, y enzimas detoxificantes (p. ej., β lactamasa y aminoglucoído fosforilasa) que inactivan a ciertos antibióticos. El periplasma contiene también grandes concentraciones de polímeros sumamente ramificados de α -glucosa, de 8 a 10 residuos de longitud, sustituidos de modo variable con residuos de fosfato de glicerol y fosfatidiletanolamina; algunos contienen ésteres *O*-succinílicos. Éstos, denominados oligosacáridos derivados de la membrana, parecen participar en la osmorregulación, ya que las células que proliferan en medios de baja osmolaridad aumentan 16 veces la síntesis de estos compuestos.

D. Enzimas que atacan las paredes celulares

El enlace β 1 $\rightarrow$ 4 de la columna vertebral del peptidoglucano se hidroliza mediante la enzima **lisozima**, la cual se encuentra en secreciones animales (lágrimas, saliva, secreciones nasales) y en la clara del huevo. Las bacterias grampositivas tratadas con lisozima en medios con presión osmótica baja se lisan; si la fuerza osmótica del medio se aumenta para equilibrar la presión osmótica interna de la célula, se liberan cuerpos esféricos libres llamados **protoplastos**. La membrana externa de la pared celular gramnegativa evita el acceso de la lisozima, a menos que sea rota por un agente como el ácido etilendiaminotetracético (EDTA), un quelante; en medios protegidos de manera osmótica, las células tratadas con lisozima-EDTA forman **esferoplastos** que aún poseen remanentes de la compleja pared gramnegativa, incluso de la membrana externa.

Las bacterias por sí solas tienen numerosas **autolisinas**, enzimas hidrolíticas que atacan al peptidoglucano, como las glucosidasas, las amidasas y las peptidasas. Estas enzimas presuntamente desempeñan funciones esenciales en el desarrollo y en la división celular, pero su actividad es más aparente durante la disolución de células muertas (autólisis).

Las enzimas que degradan las paredes celulares de las bacterias también se encuentran en las células que digieren

bacterias completas, por ejemplo, en los protozoarios y en las células fagocíticas de animales superiores.

E. Crecimiento de la pared celular

A medida que aumenta la masa de la célula, la pared celular se alarga mediante el intercambio de subunidades recién sintetizadas en las diversas capas de la pared. En los estreptococos, el intercambio en la principal capa portadora de antígenos se localiza en la región ecuatorial de la pared celular (figura 2-24); en algunas bacterias gramnegativas se ha inferido la existencia de un proceso de intercalamiento aleatorio, aunque el intercalamiento localizado seguido de rápido desplazamiento o de recambio podría producir el mismo aspecto. En la *E. coli*, el desarrollo del armazón de la membrana externa tiene lugar sólo en los polos celulares y en los componentes especializados, como los receptores de fagos, pero las permeasas se insertan de manera aleatoria en el interior de este armazón. La capa de peptidoglucano de la *E. coli* parece que se desarrolla por intercalamientos localizados aleatoriamente. En el *Bacillus subtilis*, los experimentos de seguimiento de pulsos de crecimiento han demostrado que el peptidoglucano y los ácidos teicoicos existen en bloques y hay menos de 12 sitios por célula para la inserción del material recién sintetizado.

F. Protoplastos, esferoplastos y formas L

La eliminación de la pared celular bacteriana puede lograrse mediante la hidrólisis con lisozima o a través del bloqueo de la biosíntesis del peptidoglucano con un antibiótico como la penicilina. En medios protegidos osmóticamente estos tratamientos liberan **protoplastos** de las células grampositivas, y **esferoplastos** (que retienen la membrana externa y atrapan el peptidoglucano) de las células gramnegativas.

Si tales células son capaces de crecer y dividirse se denominan **formas L**. Estas son difíciles de cultivar y generalmente requieren un medio que solidifique con agar y tenga la presión osmótica requerida. Las formas L se producen con mayor facilidad con penicilina que con lisozima, lo cual sugiere la necesidad de algún residuo de peptidoglucano.

Algunas formas L pueden regresar a la forma bacilar normal después de eliminar el estímulo inductor. Así, vuelven a estar capacitadas para reanudar la síntesis normal de la pared celular. Sin embargo, otras formas L son estables y nunca reversion. El factor que determina su capacidad para revertir puede ser, de nuevo, la presencia de un residuo de peptidoglucano, el cual suele actuar como un iniciador para su propia biosíntesis.

Algunas especies bacterianas producen formas L espontáneamente. La formación espontánea o inducida por antibióticos de formas L en el huésped puede producir infecciones crónicas con persistencia de los microorganismos al ser secuestrados en las regiones protectoras del cuerpo. Debido a que las infecciones por formas L son relativamente resistentes al tratamiento con antibióticos, se presentan problemas especiales en la quimioterapéutica. Su reversión a la forma bacilar puede producir recaídas de infección franca.

Cápsula y glucocálix

Muchas bacterias sintetizan grandes cantidades de un polímero extracelular cuando se desarrollan en su ambiente natural. Con una sola excepción (el ácido poli-D-glutámico de la cápsula del *Bacillus anthracis* y el *Bacillus licheniformis*), el material extracelular es un polisacárido (cuadro 2-1). Cuando el polímero forma un condensado y una capa bien definida rodea de manera estrecha a la célula, se le llama **cápsula** (figura 2-25A); cuando el polímero forma una maraña de fibras que se extiende fuera de la célula, se le conoce como **glucocálix** (figura 2-25B). En ocasiones se forman masas de polímero que parecen estar separadas totalmente de la célula, pero en las cuales éstas pueden estar atrapadas; en estos casos se puede referir el polímero extracelular simplemente como una "envoltura mucóide". El polímero extracelular se sintetiza por enzimas localizadas en la superficie externa de las células bacterianas. Por ejemplo, el *Streptococcus mutans* utiliza dos enzimas, la glucosiltransferasa y la fructosiltransferasa, para sintetizar grandes cadenas de

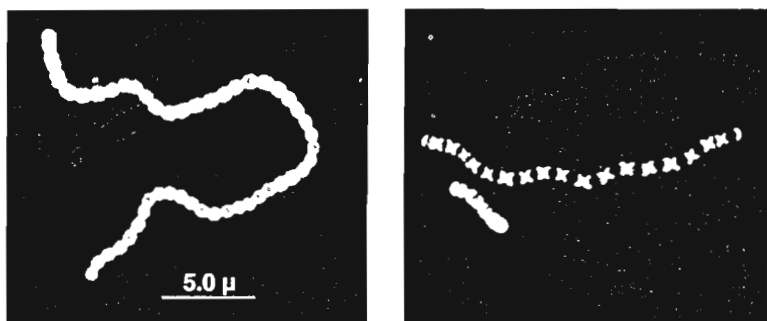


Figura 2-24. Crecimiento de la pared celular bacteriana. **A:** cadena de estreptococos teñida con anticuerpo fluorescente dirigido contra los antígenos de la pared celular. **B:** después de 15 min de crecimiento en ausencia de anticuerpo. El nuevo material de la pared celular no está teñido por el anticuerpo y se ha depositado en la región ecuatorial de cada célula. (Reproducida con autorización de Cole RM, Hahn JJ: Cell wall replication in *Streptococcus pyogenes*. Science 1962;135:722. Copyright © 1962 by the American Association for the Advancement of Science.)

Cuadro 2-1. Composición química del polímero extracelular en bacterias seleccionadas

Microorganismo	Polímero	Subunidades químicas
<i>Bacillus anthracis</i>	Polipéptido	Ácido D-glutámico
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Polisacárido complejo	Glucosa, fucosa, ácido glucurónico
<i>Neisseria meningitidis</i>	Homopolímero y heteropolímero, por ejemplo Serogrupo A	Fosfato de N-acetilmanosamina parcialmente O-acetilado
	Serogrupo B	Ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico)
	Serogrupo C	Ácido siálico acetilado
	Serogrupo 135	Galactosa, ácido siálico
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (neumococo)	Polisacáridos complejos (muchos tipos), por ejemplo Tipo II Tipo III Tipo VI Tipo XIV Tipo XVIII	Ramnosa, glucosa, ácido glucurónico Glucosa, ácido glucurónico Galactosa, glucosa ramnosa Galactosa, glucosa, N-acetilglucosamina Ramnosa, glucosa
<i>Streptococcus pyogenes</i> (grupo A)	Ácido hialurónico	N-acetilglucosamina, ácido glucurónico
<i>Streptococcus salivarius</i>	Levano	Fructosa

dextranos (poli-D-glucosa) y levanos (poli-D-fructosa) a partir de la sacarosa. Estos polímeros se denominan **homopolímeros**. Los polímeros que contienen más de un tipo de monosacárido se llaman **heteropolímeros**.

La cápsula contribuye a la invasividad de las bacterias patógenas: las células capsuladas están protegidas contra la fagocitosis a menos que estén recubiertas de anticuerpo anticapsular. El glucocáliz tiene una función importante en la adherencia de las bacterias a las superficies de su medio, incluso a las células de sus huéspedes vegetales o animales. Por ejemplo, el *S. mutans* debe al glucocáliz su capacidad de adherirse con fuerza al esmalte de los dientes. Las bacterias de la misma o diferente especie quedan atrapadas en el glucocáliz y forman en la superficie de los dientes la capa conocida como placa; los catabolitos ácidos excretados por estas bacterias provocan la caries dental (capítulo 11). La función

esencial del glucocáliz en este proceso y su formación a partir de la sacarosa explica la correlación de la caries dental con el consumo de sacarosa por la población humana.



Figura 2-25A. *Bacillus megaterium* teñido mediante una combinación de tinción positiva y negativa (1400 x). (Véase la sección acerca de tinción). (Cortesía de Welshimer H: J Bacteriol 1953;66:112.)

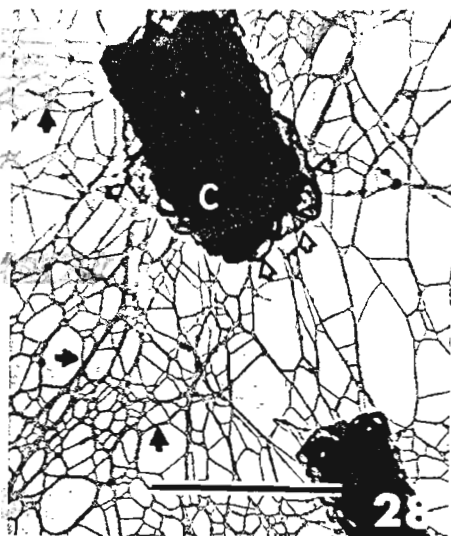


Figura 2-25B. Células de *Klebsiella pneumoniae* (C) rodeadas por el glucocáliz (flechas negras). (Reproducida con autorización de Cagle GD: Fine structure and distribution of extracellular polymer surrounding selected aerobic bacteria. Can J Microbiol 1975;21:395.)

Flagelos

A. Estructura

Los flagelos bacterianos son apéndices filiformes compuestos en su totalidad por proteína, miden de 12 a 30 nm de diámetro. Son los órganos de la locomoción para las formas que los poseen. Se conocen tres tipos de ordenamientos: **monotrico** (flagelo polar único), **lofotrico** (flagelos polares múltiples) y **peritrico** (flagelos distribuidos en la totalidad de la célula). Los tres tipos se ilustran en la figura 2-26.

Un flagelo bacteriano está constituido por varios millares de moléculas de una subunidad proteínica denominada **flagelina**. En unas cuantas especies (p. ej., *Caulobacter*), los flagelos se encuentran formados por dos tipos de flagelina, pero en la mayor parte de ellas sólo se encuentra un solo tipo. El flagelo está formado por la agregación de subunidades para formar una estructura helicoidal. Si se separan los flagelos mediante la agitación mecánica de una suspensión de bacterias, se forman de nuevo rápidamente mediante la síntesis, agregación y extrusión de subunidades de flagelina; la motilidad se restaura en menos de 3 a 6 min. Se presume que las flagelinas de diversas especies bacterianas difieren entre sí en la estructura primaria. Son altamente antigénicas (**antígenos H**) y algunas de las respuestas inmunitarias a la infección están dirigidas contra estas proteínas.

El flagelo está adherido al cuerpo celular bacteriano por medio de una estructura compleja constituida por un gancho y un cuerpo basal. El gancho es una estructura curva y corta que parece actuar como articulación universal entre el motor en la estructura basal y el flagelo. El cuerpo basal tiene una serie de anillos: un par en las bacterias grampositivas y dos pares en las gramnegativas. En las figuras 2-27 y 2-28 se

muestran una electromicrografía y diagramas de interpretación de la estructura de las gramnegativas; los anillos marcados con L y P no existen en las células grampositivas. La complejidad del flagelo bacteriano se ha revelado por estudios génicos que muestran que más de 40 productos genéticos intervienen en su ensamble y función.

B. Motilidad

Los flagelos bacterianos son rotores helicoidales semirrígidos a los cuales la célula les imparte un movimiento de giro. La rotación se impulsa por el flujo de los protones hacia el interior de la célula en contra del gradiente producido por la bomba primaria de protones (véase antes); sin una fuente de energía metabólica, puede ser impulsada por una fuerza motriz de protones generada por ionóforos. Las bacterias que viven en medios alcalinos (alcalófilas) utilizan energía del gradiente del ion sodio en lugar del de protones para impulsar el motor flagelar (figura 2-29).

Todos los componentes del motor flagelar se localizan en la envoltura celular. Los flagelos unidos a envolturas celulares aisladas y selladas giran de manera normal cuando el medio contiene un sustrato adecuado para la respiración o se establece, de manera artificial, un gradiente de protones.

Cuando una bacteria peritrica nada, sus flagelos se reúnen para formar un manojito posterior que empuja a la célula hacia adelante en una línea recta mediante rotación en sentido opuesto al movimiento de las manecillas del reloj. A intervalos, los flagelos invierten la dirección de la rotación y se separan para hacer que la célula se mueva en saltos o brincos hasta que el movimiento se reanuda en una nueva dirección determinada al azar. Esta conducta hace posible la propiedad de la **quimiotaxis**: una célula que se aleja de la fuente de un

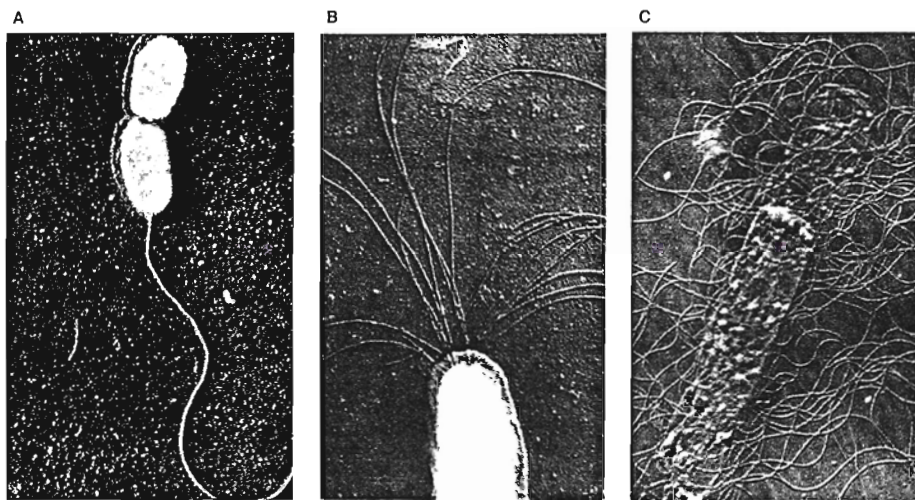


Figura 2-26. Flagelos bacterianos. **A:** *Vibrio metchnikovii*, una bacteria monotrica (7500 $\times$). (Cortesía de van Iterson W: Biochim Biophys Acta 1947;1:527.) **B:** electromicrografía de *Spirillum serpens*, que muestra los flagelos lofotricos (9000 $\times$). (Cortesía de van Iterson W: Biochim Biophys Acta 1947;1:527.) **C:** electromicrografía de *Proteus vulgaris*, que muestra los flagelos peritricos (9000 $\times$). Nótese los gránulos basales. (Cortesía de Houwink A, van Iterson W: Biochim Biophys Acta 1950;5:10.)

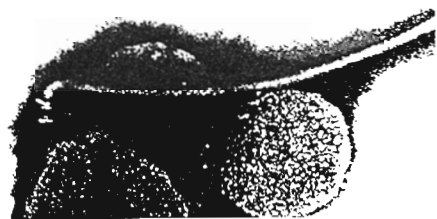


Figura 2-27. Electromicrografía de un lisado con tinción negativa de *Rhodospirillum rubrum*, que muestra la estructura basal de un flagelo aislado. (Reproducida con autorización de Cohen-Bazire G, London L: Basal organelles of bacterial flagella. J Bacteriol 1967;94:458.)

atractivo químico se mueve en saltos y vuelve a orientarse con mayor frecuencia que una célula que se desplaza hacia el atrayente, lo cual produce el movimiento neto de la célula hacia la fuente. La presencia de un atrayente químico (como el azúcar o algún aminoácido) se capta por receptores específicos localizados en la membrana celular (en muchas circunstancias el mismo receptor participa también en el transporte de membrana de dicha molécula). La célula bacteriana es demasiado pequeña para detectar la existencia de un gradiente químico espacial (es decir, un gradiente entre sus dos polos); en vez de esto, los experimentos demuestran que detecta gradientes temporales, es decir, concentraciones que disminuyen durante el tiempo en el cual la célula se aleja del origen

de la atracción, o que aumentan durante el tiempo en que la célula se mueve hacia él.

Algunos compuestos actúan como repelentes en lugar de atrayentes. Un mecanismo por el cual las células responden a los atrayentes y a los repelentes involucra una metilación y desmetilación de proteínas específicas en la membrana mediadas por el monofosfato de guanosina cíclico (cGMP). Los atrayentes provocan una inhibición transitoria de la desmetilación de estas proteínas, en tanto que los repelentes la estimulan.

El mecanismo por el cual se origina el cambio en el comportamiento celular en respuesta a una modificación en el medio se denomina **transducción sensorial**, que no sólo causa la quimiotaxia, sino también la aerotaxia (movimiento hacia la concentración óptima de oxígeno), la **fototaxia** (movimiento de las bacterias fotosintéticas hacia la luz) y la **taxis hacia aceptores de electrones** (movimiento de las bacterias respiratorias hacia aceptores de electrones alternos como nitrato y fumarato). En estas tres respuestas, como en la quimiotaxia, el movimiento neto se determina por la regulación de la respuesta en saltos.

Pili (fimbrias)

Muchas bacterias gramnegativas poseen apéndices rígidos en la superficie denominados **pili** (del latín, "pelos") o **fimbrias** (del latín, "flecos"). Son más cortos y más delgados que los flagelos; como éstos, están constituidos por subunidades proteínicas estructuradas llamadas **pilinas**. Algunas fimbrias contienen un solo tipo de pilina; otras, más de uno. Las proteínas

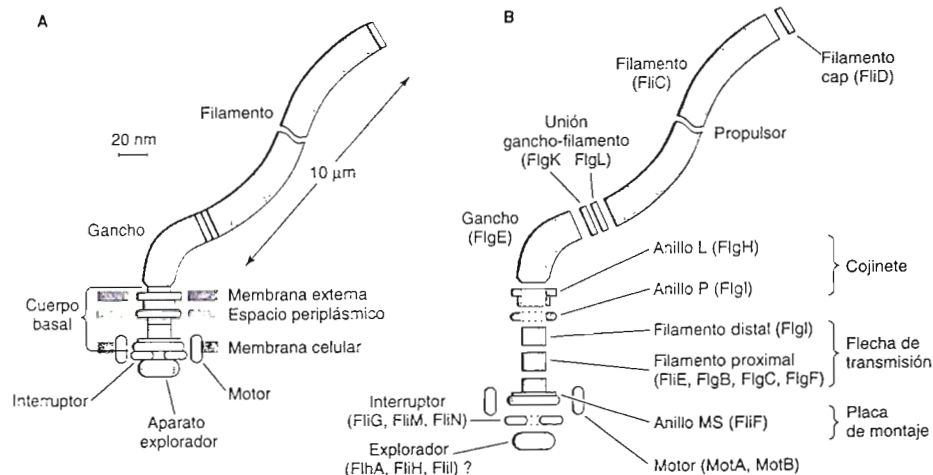


Figura 2-28. A: estructura general del flagelo de una bacteria gramnegativa como *E. coli* o *S. typhimurium*. El complejo filamento-gancho-cuerpo basal se ha aislado y caracterizado en detalle. No se ha demostrado la ubicación del aparato exportador. B: diagrama del flagelo desarticulado para mostrar las subestructuras y las proteínas con las que está construido. La proteína FliF es la responsable del anillo M, del anillo S y del collar de la subestructura mostrada, que se denomina colectivamente como el anillo MS. No se conoce la ubicación de FliE con respecto al anillo MS y al filamento, ni el orden de las proteínas FliB, FliC, y la FliG con relación al filamento proximal. (De Macnab RM: Genetics and Biogenesis of bacterial flagella. Annu Rev Genet 1992;26:131. Reproducido con autorización de Annual Review of Genetics, Volume 26, © 1992 por Annual Reviews.)

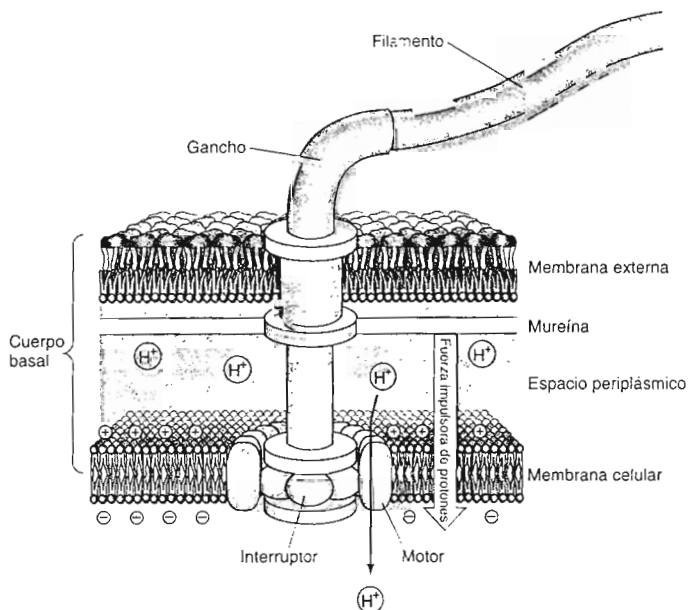


Figura 2-29. Los componentes estructurales dentro del cuerpo basal del flagelo permiten la rotación de la porción interna de esta estructura, de los bastones del cuerpo basal y del complejo gancho-filamento a él unido. Los anillos externos permanecen estáticos en contacto con las membranas interna y externa y la pared celular (mureína), anclando el complejo flagelar a la envoltura celular. La rotación se impulsa por el flujo de protones a través del motor desde el espacio periplásmico, fuera de la membrana celular y hacia el citoplasma en respuesta al campo eléctrico y al gradiente de protones a través de la membrana y juntos forman la fuerza impulsora de protones. Un interruptor determina la dirección de rotación y ésta, a su vez, ordena si la bacteria nada hacia adelante (debido a la rotación del flagelo en sentido opuesto al de las manecillas del reloj) o da tumbos (por la rotación del flagelo en el sentido de las manecillas del reloj). (Reproducido con autorización de Saier MH Jr: Peter Mitchell and his chemiosmotic theories. ASM News 1997;63:13. Por permiso de J/B Woolsey Associates, LLC.)

menores situadas en los extremos de las fimbrias determinan las propiedades de adhesión. Pueden diferenciarse dos clases, las fimbrias ordinarias, que intervienen en la adhesión de las bacterias simbióticas y patógenas a las células huéspedes, y las fimbrias sexuales, que unen a las células donadora y aceptora en la conjugación bacteriana (capítulo 7). La figura 2-30 muestra a las fimbrias; de ellas, la fimbria sexual se ha recubierto de partículas virales (fagos) para las cuales sirve como receptor específico. Las moléculas de pilina están ordenadas helicoidalmente para formar un cilindro recto que no gira y carece de un cuerpo basal completo.

La virulencia de ciertas bacterias patógenas no sólo depende de la producción de toxinas, sino también de los "antígenos de colonización", que en la actualidad se han reconocido como *pilis* ordinarios que dan a las células propiedades adherentes. En las cepas de *Escherichia coli* enteropatógena, tanto las enterotoxinas como los antígenos de colonización (*pili*) están determinados genéticamente por plásmidos transferibles, como se indica en el capítulo 7.

En un grupo de cocos grampositivos, los estreptococos, las fimbrias tienen al antígeno de superficie más importante, la proteína M. El ácido lipoteicoico relacionado con estas fim-

brias es el responsable de la adherencia de los estreptococos del grupo A a las células epiteliales del huésped.

Las fimbrias de bacterias diferentes son distintas antígenicamente e inducen la formación de anticuerpos por el huésped. Los anticuerpos contra las fimbrias de una especie bacteriana no evitan la adhesión de otras especies. Algunas bacterias (capítulo 21), como la *N. gonorrhoeae*, tienen la capacidad de formar fimbrias de distintos tipos antígenicos (variación antigénica) y, por tanto, pueden adherirse a las células a pesar de la presencia de anticuerpos contra su tipo original de fimbria.

Endosporas

Los integrantes de diversos géneros bacterianos pueden formar endosporas (figura 2-31). Los dos más comunes son bacilos grampositivos: el género *Bacillus*, que es aerobio obligado, y el género *Clostridium*, el cual es anaerobio obligado. Las otras bacterias que se sabe forman endosporas son los cocos grampositivos *Sporosarcina* y tal vez el agente ricettisial de la fiebre Q, la *Coxiella burnetii*. Estos microorga-

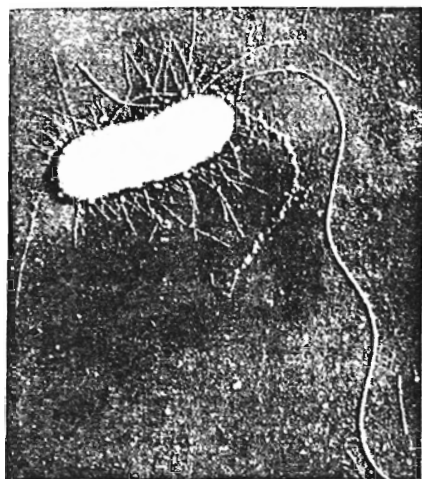


Figura 2-30. Apéndices de la superficie bacteriana. Micrografía electrónica de una célula de *Escherichia coli* que posee tres tipos de apéndices: fimbrias ordinarias (cortas y rectas); una fimbria sexual (más larga, flexible, con partículas de fago adheridas); y varios flagelos (los más largos y gruesos). Diámetros: fimbria ordinaria, 7 nm; fimbrias sexuales, 8.5 nm; flagelos, 25 nm. (Cortesía de J. Carnahan y C. Brinton.)

nismos sufren un ciclo de diferenciación en respuesta a las condiciones ambientales: en condiciones de depauperación nutricional, cada célula forma una única espora interna, la cual

se libera cuando la célula madre sufre autólisis. La espora es una célula en reposo muy resistente a la desecación, al calor y a los agentes químicos; cuando se regresa a condiciones nutricionales favorables y se activa (véase después), la espora germina para producir una célula vegetativa única.

A. Esporulación

El proceso de esporulación comienza cuando las condiciones nutricionales se tornan desfavorables, pero el agotamiento de las fuentes de nitrógeno o de carbono (o ambas) es el factor más importante. La esporulación se presenta masivamente como resultado de dicho agotamiento en los cultivos que han terminado el crecimiento exponencial.

La esporulación implica la producción de muchas estructuras, enzimas y metabolitos nuevos, junto con la desaparición de varios componentes vegetativos celulares. Estos cambios representan un verdadero proceso de diferenciación: se activan una serie de genes cuyos productos determinan la formación y la composición final de la espora, mientras se inactivan otra serie de genes involucrados en la función vegetativa celular. Estos cambios incluyen alteraciones en la especificidad de transcripción de la RNA polimerasa, la cual está determinada por la unión de la proteína central de la polimerasa con una u otra proteína específica promotora denominada **factor sigma**. Durante el crecimiento vegetativo y la esporulación se producen diferentes factores sigma.

La secuencia de eventos en la esporulación es muy compleja: la diferenciación de una célula vegetativa del *B. subtilis* a una endospora tarda casi 7 h bajo condiciones de laboratorio. En las etapas sucesionales del proceso se producen diferentes fenómenos morfológicos y químicos. Se han identificado siete etapas distintas. A lo largo del proceso, algunas bacterias liberan antibióticos péptidos que pueden tener alguna participación en la regulación de la esporogénia.



Figura 2-31. Células en esporulación de una especie de *Bacillus*. A: bacilo no identificado del suelo. B: *B. cereus*. C: *B. megaterium*. (Reproducida con autorización de Robinow CF, en: Structure. Vol. 1 de: *The Bacteria: A Treatise on Structure and Function*. Gunsalus IC, Stainer RY [editores]. Academic Press, 1960.)

Desde el punto de vista morfológico, la esporulación se inicia con la formación de un filamento axial (figura 2-32). El proceso continúa con una invaginación de la membrana, de manera que se produce una estructura bimembranal cuyas superficies en oposición corresponden a la superficie sintetizadora de la pared celular de la envoltura de la célula. Los puntos de crecimiento se mueven progresivamente hacia el polo de la célula para englobar a la espora en desarrollo.

Las dos membranas de la espora, ahora comprometidas en la síntesis de las capas especiales que formarán la pared celular, son la **pared de la espora** y la **corteza**, que yacen entre las membranas opuestas; y la **capa** y el **exosporio**, que se encuentran fuera de dichas membranas. En el citoplasma recién aislado; es decir, el **centro**, se degradan muchas enzimas vegetativas y se reemplazan por un conjunto de constituyentes únicos de dicha espora.

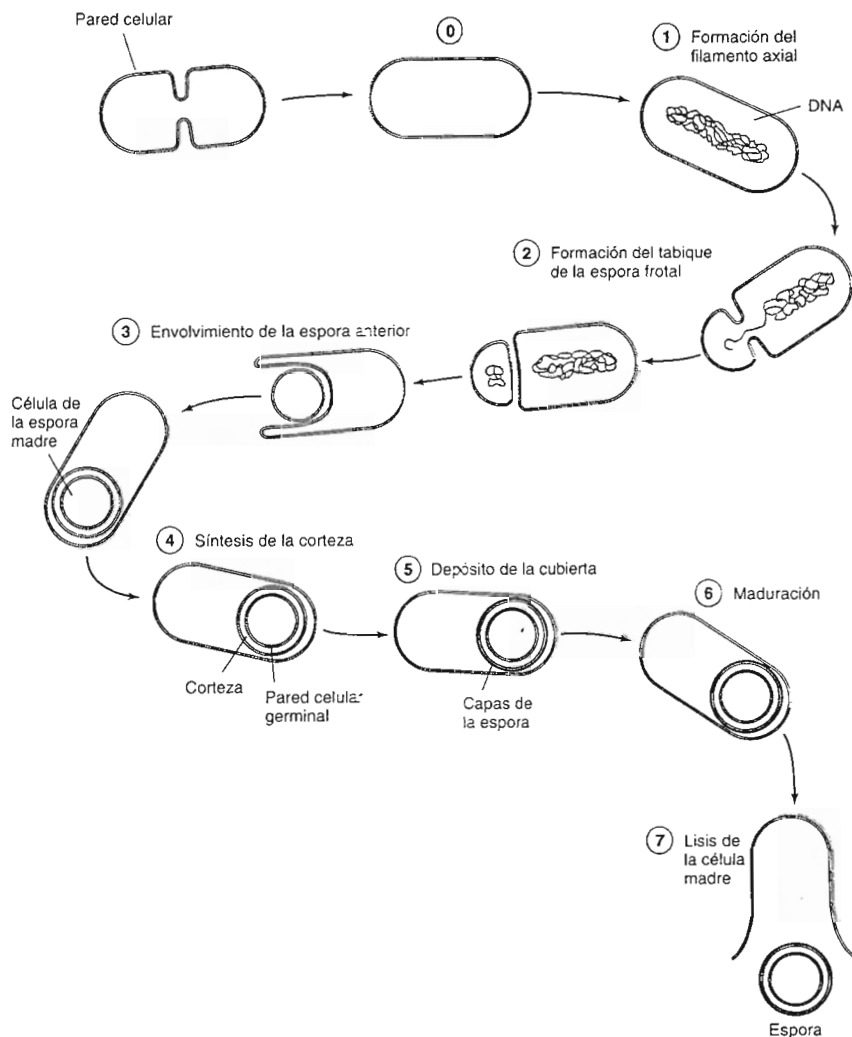


Figura 2-32. Etapas de la formación de la endospora. (Reproducida con autorización de Merrick MJ: *Streptomyces*. En: *Developmental Biology of Prokaryotes*. Parish JH [editor.] Univ California Press, 1979.)

B. Propiedades de las endosporas

1. **Centro:** el centro es el protoplasto de la espora. Contiene un núcleo completo (cromosoma), todos los componentes del aparato sintetizador de proteínas y un sistema generador de energía basado en la glucólisis. Hay ausencia de citocromos inclusive en las especies aeróbicas cuyas esporas dependen de una vía corta de transporte de electrones que involucra a las flavoproteínas. Numerosas enzimas de la célula vegetativa se encuentran aumentadas en cantidad (p. ej., la alanina racemasa) y se producen numerosas enzimas poco comunes (p. ej., ácido dipicolínico sintetasa). La energía para la germinación se almacena más bien como 3-fosfoglicerato y no como ATP.

La resistencia de las esporas al calor se debe, en parte, a su estado deshidratado y en parte a la existencia en el centro de grandes cantidades (5 a 15% del peso seco) de **dipicolinato cálcico** formado a partir de un intermedio de la vía biosintética de la lisina (figura 6-23). De algún modo aún no comprendido, estas propiedades permiten la estabilización de las enzimas de la espora, la mayor parte de las cuales tienen termolabilidad normal cuando están aisladas en forma soluble.

2. **Pared de la espora:** la capa más profunda que rodea a la membrana interna de la espora se denomina pared de la espora. Contiene peptidoglucano normal y se transforma en la pared de la célula vegetativa cuando germina.
3. **Corteza:** la corteza es la capa más gruesa de la envoltura de la espora. Contiene un tipo poco común de peptidoglucano con menos enlaces cruzados de los que normalmente se encuentran en el peptidoglucano de la pared celular. El peptidoglucano cortical es muy sensible a la lisozima y su autólisis desempeña una función importante en la germinación de la espora.
4. **Capa:** la capa está compuesta por una proteína semejante a la queratina y tiene muchos enlaces disulfuro intramoleculares. La impermeabilidad de esta capa le confiere a las esporas su resistencia relativa a los agentes químicos antibacterianos.
5. **Exosporio:** es una lipoproteína de la membrana que contiene algunos carbohidratos.

C. Germinación

El proceso de germinación se presenta en tres etapas: activación, iniciación y excrecencia.

1. **Activación:** la mayor parte de las endosporas no pueden germinar inmediatamente después de formarse, pero sí pueden hacerlo después de estar en reposo por varios días o activarse por primera vez, en un medio nutritivo rico, por cualquier agente que dañe la corteza. Entre los agentes que pueden terminar con la latencia de la espora están el calor, la abrasión, la acidez y los compuestos que contienen grupos sulfhidrilo libres.
2. **Iniciación:** una vez activada, la espora inicia la germinación si las condiciones ambientales son favorables. Especies distintas han desarrollado receptores que reconocen a efectores diferentes, los cuales actúan como señales de un medio rico; de esta manera, el inicio se desencadena por la L-alanina en una especie y por la adenosina en otra. El enlace del efector activa una autolisina que degrada con rapidez al peptidoglucano cor-

tical. Se capta agua, se libera dipicolinato cálcico, y varios de los componentes de la espora se degradan por las enzimas hidrolíticas.

3. **Excrecencia:** la degradación de la corteza y de las capas exteriores causa la aparición de una nueva célula vegetativa que consiste en el protoplasto de la espora con su pared circunvecina. A esto sigue un periodo de biosíntesis activa que termina en la división celular y recibe el nombre de excrecencia. Esta etapa requiere una fuente de abasto de todos los nutrientes esenciales para el desarrollo celular.

TINCIONES

Las tinciones se combinan químicamente con el protoplasma bacteriano; si la célula no ha muerto, el proceso mismo de la tinción termina por hacerlo. El método, por consiguiente, es muy drástico y puede producir artificios.

Las tinciones más usuales son sales. Las **tinciones básicas** consisten en un catión coloreado unido a un anión incoloro (p. ej., cloruro de azul de metileno⁺), mientras que las **ácidas** constituyen exactamente lo contrario (ejemplo, eosinato⁻ de sodio⁺). Las células bacterianas son abundantes en ácidos nucleicos de carga negativa en forma de grupos fosfato; éstos se combinan con los colorantes básicos con carga positiva. Los colorantes ácidos no tiñen a la célula bacteriana y, por tanto, pueden utilizarse para teñir al fondo con un color de contraste (véase después, tinción negativa).

Las tinciones básicas tiñen uniformemente a las células bacterianas, a menos que antes se destruya el RNA del citoplasma. También se pueden usar técnicas de tinción especiales para diferenciar flagelos, cápsulas, paredes celulares, membranas celulares, gránulos, nucleoides y esporas.

Tinción de Gram

Una característica taxonómica importante de las bacterias es su respuesta a la tinción de Gram. Esta característica parece ser fundamental, ya que la reacción a la tinción se correlaciona con muchas otras propiedades morfológicas en maneras relacionadas filogenéticamente (capítulo 3). Un microorganismo potencialmente grampositivo puede verse como tal sólo cuando concurren un conjunto particular de condiciones ambientales en un cultivo joven.

El procedimiento para la tinción de Gram (véase capítulo 47 para detalles) se inicia con la aplicación de un colorante básico, el cristal violeta. Luego se aplica una solución de yodo; en este momento todas las bacterias se tiñen de azul. A continuación, las células se tratan con alcohol. Las células grampositivas retienen el complejo cristal violeta-yodo y permanecen de color azul; en cambio, las gramnegativas se decoloran completamente por el alcohol. Por último, se aplica un colorante de contraste (como la safranina, que es un colorante rojo); de esta manera, las células gramnegativas, previamente decoloradas, toman el colorante de contraste y las células grampositivas ahora aparecen púrpuras.

La base de la reacción diferencial de Gram es la estructura de la pared celular, como se describió en este capítulo.

Tinción acidorresistente

Las bacterias acidorresistentes son las que retienen la carbolfucsina (fucsina básica disuelta en una mezcla de alcohol, fenol y agua), aun cuando se intente decolorarlas con una mezcla de alcohol y ácido clorhídrico. El procedimiento de tinción es el siguiente: un frotis preparado sobre un portaobjetos se cubre con carbolfucsina y se calienta en un baño de vapor, acto seguido se decolora con alcohol ácido y finalmente se aplica un colorante de contraste (azul o verde). Las bacterias acidorresistentes (las especies de *Mycobacterium* y algunos actinomicetos relacionados) se tiñen de color rojo; el resto adquiere el color del colorante de contraste.

Tinción negativa

Este procedimiento consiste en la tinción del fondo con un colorante ácido para dejar a las células incoloras en contraste. Por lo general se utiliza el colorante negro llamado nigrúsina. El método sirve para observar bacterias o estructuras que difícilmente se tiñen con las técnicas directas (figura 2-25A).

Tinción de los flagelos

Los flagelos son estructuras demasiado finas (12 a 30 nm de diámetro) para ser visibles en el microscopio de luz. Sin embargo, si se tratan con una suspensión coloidal inestable de sales de ácido tánico para formar un precipitado denso en la pared celular y en los flagelos, se puede poner de manifiesto su presencia y disposición en las células. De esta manera, el diámetro aparente de estas estructuras aumenta de tal modo que la tinción subsiguiente con fucsina básica los hace visibles en el microscopio óptico. La figura 2-33 muestra células teñidas por este método.

En las bacterias peritricas los flagelos se agrupan en forma de manojo durante el movimiento y pueden ser suficientemente gruesos como para observarse en las células vivas mediante microscopía de campo oscuro o de contraste de fases.

Tinción de la cápsula

La cápsula se pone de manifiesto mediante una coloración negativa o una modificación de ella (figura 2-25A). Uno de los métodos de "tinción de la cápsula" (método de Welch) incluye el tratamiento de las bacterias con una solución caliente de cristal violeta seguido por un lavado con una solución de sulfato de cobre. Esta última se usa para remover el exceso de colorante, ya que el lavado habitual con agua disolvería la cápsula. El sulfato de cobre también imparte color al fondo, lo que provoca que la célula y el fondo aparezcan teñidos en color azul oscuro, mientras la cápsula aparece de color azul pálido.

Tinción del núcleo

Los núcleos se pueden teñir con la tinción de Feulgen, la cual es específica para el DNA (figura 22-15).

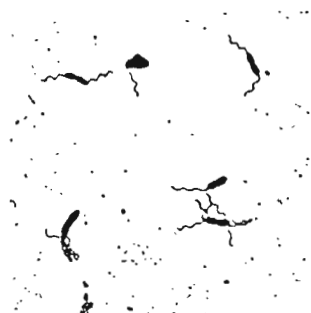


Figura 2-33. Tinción de flagelos de una especie de *Pseudomonas*. (Cortesía de Leifson E: J Bacteriol 1951;62:377.)

Tinción de las esporas

Las esporas se observan de la manera más simple como cuerpos refringentes intracelulares en suspensiones de bacterias sin teñir, o como zonas incoloras dentro de las células bacterianas teñidas con los métodos habituales. La pared de la spora es relativamente impermeable, no obstante, los colorantes pueden penetrarla si se calienta la preparación. La misma impermeabilidad sirve, por tanto, para evitar la decoloración de la spora durante el periodo de tratamiento con alcohol, el cual es suficiente para decolorar las células vegetativas. Finalmente, estas últimas pueden ser contrastadas. Las esporas por lo común se tiñen con verde de malaquita o carbolfucsina.

CAMBIOS MORFOLÓGICOS DURANTE EL CRECIMIENTO

División celular

En general, las bacterias se reproducen por fisión binaria. Después del alargamiento de la célula se forma una membrana citoplásmica transversal y después una nueva pared celular. En las bacterias, la membrana transversal y la pared celular crecen hacia el interior a partir de las capas más externas, un proceso en el cual los mesosomas de tabique están íntimamente involucrados (figura 2-15). Los nucleoides, cuyo número se ha duplicado antes de la división, se distribuyen por igual entre las dos células hijas.

Aunque las bacterias carecen de un huso acromático, la membrana transversal se forma de tal modo que separa a los dos cromosomas homólogos formados por replicación cromosómica. Esto se logra mediante la adhesión del cromosoma a la membrana celular. De acuerdo con un modelo, la terminación de un ciclo de replicación del DNA desencadena la síntesis activa de la membrana entre los sitios de adhesión de los dos cromosomas homólogos; éstos se separan por el crecimiento invaginante de la membrana transversal. A esto sigue el depósito de nuevo material en la pared para dar lugar a la elongación y duplicación final de la envoltura celular.

Agupamientos celulares

Si las células permanecen unidas temporalmente después de la división, se forman ciertos grupos característicos. Según el plano de la división y la cantidad de divisiones a través de las cuales las células permanecen unidas, en las formas de los cocos puede ocurrir lo siguiente: cadenas (estreptococos), pares (neumococos), racimos cúbicos (sarcinas) o placas planas. Los bacilos pueden formar pares o cadenas.

Después de la división de algunas bacterias ocurren movimientos característicos. Por ejemplo, un movimiento de "látigo" puede acomodar a las células en posiciones paralelas; la división iterativa y el movimiento de látigo provocan el arreglo "en palizada", característico del bacilo diftérico.

Cambios en el ciclo de vida

Tan pronto como las bacterias pasan del estado de reposo al de crecimiento activo, ocurren ciertos cambios visibles. Las células tienden a ser más grandes, los gránulos desaparecen y el protoplasma se tiñe más intensamente con los colorantes básicos. Cuando la velocidad del crecimiento disminuye otra vez, tiene lugar un cambio inverso y gradual. Por último, en los cultivos muy viejos aparecen células de formas poco comunes llamadas formas de involución. Estas incluyen filamentos, yemas y células ramificadas, muchas de las cuales no son viables.

Preguntas de revisión

- Un hombre de 22 años de edad acude con una úlcera de 1 cm no dolorosa en el cuerpo de su pene. Existe linfadenopatía inguinal. El paciente admite que intercambia drogas por sexo y que tiene varias parejas sexuales. Una prueba de RPR es positiva; sin embargo, una tinción de Gram de un frotis de espécimen proveniente de la úlcera no muestra bacterias. El *Treponema pallidum*, agente causal de la sífilis, no puede verse con microscopía ligera debido a que
 - Es transparente
 - No puede ser teñido con colorantes ordinarios
 - Tiene un diámetro de $> 0.2 \mu\text{m}$
 - La longitud de onda de la luz blanca es demasiado larga
 - El rápido movimiento de los organismos impide su visualización

- El cloranfenicol, antibiótico que inhibe la síntesis de proteínas bacterianas, ¿qué organelos de las células eucariontes afecta además?
 - Mitocondria
 - Aparato de Golgi
 - Microtúbulos
 - Retículo endoplásmico
 - Membrana nuclear
- ¿Cuál de las siguientes estructuras no es parte de la envoltura de la célula bacteriana?
 - Peptidoglucano
 - Lipopolisacárido
 - Cápsula
 - Flagelos
 - Capa S
- ¿Cuál de los siguientes mecanismos de transporte funciona sin necesidad de energía?
 - Dependiente de unión a proteínas
 - Translocación de grupo
 - Simporte
 - Uniporte
 - Difusión facilitada
- ¿Cuál de los siguientes componentes está presente en bacterias Grampositivas pero no en bacterias Gramnegativas?
 - Peptidoglucano
 - Lípido A
 - Cápsula
 - Flagelos
 - Pili (fimbrias)
- ¿Cuál de los siguientes componentes está presente en bacterias Grampositivas pero no en bacterias Gramnegativas?
 - Peptidoglucano
 - Cápsula
 - Flagelos
 - Ácido teicoico
 - Pili (fimbrias)
- En el otoño del 2001, una serie de cartas que contenían esporas del *Bacillus anthracis* fueron enviadas por correo a miembros de los medios de comunicación y a las oficinas del Senado de los EUA. El resultado fue de 22 casos de Antrax y cinco muertes. La resistencia al calor de las esporas bacterianas, tal como aquellas del *B. anthracis*, se debe en parte a su estado de deshidratación y en parte a la presencia de grandes cantidades de
 - Ácido diaminopimélico
 - Ácido D-glutámico
 - Dipicolinato cálcico
 - Proteínas que contienen sulfhidrolo
 - Lípido A

Respuestas: 1 = C; 2 = A; 3 = D; 4 = E; 5 = B; 6 = D; 7 = C.

REFERENCIAS

Libros

- Balows A et al. (editors): *The Prokaryotes*, 2nd ed. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications. Vols 1, 2, 3, and 4. Springer, 1992.
- Drlica K, Riley M (editors): *The Bacterial Chromosome*. American Society for Microbiology, 1990.
- Moat A.G., Foster JW: *Microbial Physiology*, 3rd ed. Wiley-Liss, 1995.
- Neidhardt FC, Ingraham JL, Schaechter M: *Physiology of the Bacteria Cell*. Sinauer, 1990.

Sonenshein AL, Hoch JA, Losick R: *Pacillus subtilis and Its Closest Relatives*. American Society for Microbiology, 2002.

Artículos y revistas

- Benz R: Structure and function of porins from gram-negative bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1985;42:359.
- Bermudes D, Hinkle G, Margulis L: Do prokaryotes contain microtubules? *Microbiol Rev* 1994;58:387.
- Biagini GA, Finlay BJ, Lloyd D: Evolution of the hydrogenosome. *FEMS Microbiol Lett* 1997;155:133.

- Blair DF: How bacteria sense and swim. *Annu Rev Microbiol* 1995;49:489.
- Grossman AR *et al.*: The phycobilisome, a light-harvesting complex responsive to environmental conditions. *Microbiol Rev* 1993;57:725.
- Hinnebusch J Tilly K: Linear plasmids and chromosomes in bacteria. *Mol Microbiol* 1993;10:917.
- Höltje J-V: Growth of the stress-bearing and shape-maintaining murein sacculus of *Escherichia coli*. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:181.
- Hueck CJ: Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:379.
- Hultgren SJ *et al.*: Pilus and nonpilus bacterial adhesins: Assembly and function in cell recognition. *Cell* 1993; 73:887.
- Koch AL: The biophysics of the gram-negative periplasmic space. *Crit Rev Microbiol* 1998;62:379.
- Merchante R, Phooley HM, Karamata D: A periplasm in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol* 1995;177:6176.
- Messner P *et al.*: III. Biochemistry of S-layers. *FEMS Microbiol Rev* 1997;20:25.
- Müller M: The hydrogenosome. *J Gen Microbiol* 1993; 139:2879.
- Narongna N: Morphogenesis of *Escherichia coli*. *Microbiol Mol Biol Rev* 1993;269:3905.
- Nikaido H: Porins and specific diffusion channels in bacterial outer membranes. *J Biol Chem* 1994;269: 3905.
- Phillips NJ *et al.*: Structural models of the cell surface lipooligosaccharides of *Neisseria gonorrhoeae* and *Haemophilus influenzae*. *Biomed Environ Mass Spectrometry* 1990;19:731.
- Rachel R *et al.*: Fine structure of S-layers. *FEMS Microbiol Rev* 1997;20:13.
- Raetz CRH: Bacterial endotoxins: extraordinary lipids that active eucaryotic signal transduction. *J Bacteriol* 1993;175:5745.
- Robinson C, Kellenberger E: The bacterial nucleoid revisited. *Microbiol Rev* 1994;58:211.
- Schirmer T: General and specific porins from bacterial outer membranes. *J Struct Biol* 1998;121:101.
- Stoltz JF: Magnetosomes. *J Gen Microbiol* 1993;139: 1663.
- Vaara M: Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiol Rev* 1992;56:395.
- Walshy AE: Gas vesicles. *Microbiol Rev* 1994;58:94.
- Whittaker CJ, Klier CM, Kolenbrander PE: Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1996; 50:513.

Clasificación de las bacterias

DEFINICIONES

La clasificación, la nomenclatura y la identificación son tres áreas separadas, pero interrelacionadas, de la taxonomía. La clasificación es el ordenamiento de microorganismos en grupos taxonómicos (*taxa*) con base en semejanzas o interrelaciones. La clasificación de los microorganismos procariotes, como son las bacterias, requiere un conocimiento obtenido por técnicas experimentales así como la observación, ya que a menudo es necesario determinar las propiedades bioquímicas, fisiológicas, genéticas y morfológicas para lograr una descripción adecuada de un taxón. La nomenclatura consiste en dar nombre a un microorganismo con base en reglas internacionales de acuerdo con sus características. La identificación se refiere al uso práctico de un esquema de clasificación: 1) para aislar e identificar microorganismos de interés de aquéllos que no lo tienen; 2) para verificar la autenticidad o las propiedades especiales de un cultivo; o, en una situación clínica, 3) para aislar e identificar al agente causal de una enfermedad. Esto último permite la selección de un tratamiento farmacológico dirigido especialmente a su erradicación (capítulo 10). Los esquemas de identificación no son esquemas de clasificación, aunque puede haber una semejanza superficial. Sólo puede diseñarse un esquema de identificación para un grupo de microorganismos después de que éste se ha clasificado, esto es, reconocido como distinto a otros microorganismos.

CRITERIOS PARA LA CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS

Los criterios convenientes para propósitos de clasificación bacteriana incluyen muchas de las propiedades descritas en el capítulo anterior. Se obtiene valiosa información al observar al microscopio la forma celular y la presencia o ausencia de estructuras especializadas como esporas o flagelos. Los procedimientos de tinción (como la tinción de Gram) pueden proporcionar una estimación confiable de la naturaleza de las superficies celulares. Algunas bacterias producen pigmentos característicos y otras se pueden identificar por su

complemento de enzimas extracelulares; la actividad de estas proteínas con frecuencia se puede observar como zonas transparentes que rodean a las colonias que proliferan en presencia de sustratos insolubles (p. ej., zonas de hemólisis en medio de agar con eritrocitos). El uso de anticuerpos específicos puede proporcionar un indicio rápido de similitud en las estructuras superficiales de bacterias aisladas por separado. Es factible utilizar pruebas del tipo de la oxidasa, que emplea un aceptor artificial o electrón para distinguir microorganismos mediante la presencia de una enzima respiratoria, el citocromo c. Pruebas bioquímicas simples pueden confirmar la existencia de funciones metabólicas características. Los criterios que conducen al agrupamiento exitoso de algunos microorganismos relacionados incluyen también la medición de su sensibilidad a los antibióticos.

Todas las propiedades anteriores están determinadas directa o indirectamente por los genes de los microorganismos examinados. Los avances en la biología molecular permiten investigar la semejanza entre los genes mediante la comparación de secuencias de genes de diferentes bacterias (capítulo 7).

El valor de un criterio taxonómico depende del grupo biológico que se compara. No pueden usarse características compartidas por todos o ninguno de los miembros para distinguir a uno en particular, pero éstas sí pueden definir a un grupo (p. ej., todos los estafilococos producen la enzima catalasa). Además, la inestabilidad genética puede originar que ciertos caracteres sean muy variables dentro de un grupo biológico o aun dentro de una misma línea celular. Por ejemplo, los genes de resistencia a los antibióticos o los genes que codifican para enzimas (utilización de lactosa, etc.) pueden transportarse en plásmidos (capítulo 7), elementos genéticos extracromosómicos que pueden transferirse entre bacterias no relacionadas o perderse en un subconjunto de cepas bacterianas idénticas en todos sus demás aspectos. La mayor parte de los criterios de clasificación dependen del crecimiento del microorganismo en el laboratorio (capítulo 5). A veces, microorganismos del tipo de los treponemas patógenos (capítulo 25) no proliferan en el laboratorio, y en estos casos pueden tener un valor particular las técnicas que revelan la similitud mediante la medición de la hibridación del ácido nucleico o el análisis de la secuencia del DNA.

SISTEMAS DE IDENTIFICACIÓN Y CLASIFICACIÓN

Claves

Las claves organizan las características bacterianas de tal manera que permiten una identificación eficiente de los microorganismos. El sistema ideal de identificación debe contener una cantidad mínima de características necesarias para un diagnóstico correcto. Los grupos se separan en subgrupos menores con base en la presencia (+) o ausencia (-) de una característica diagnóstica. La continuación del proceso con diferentes caracteres guía al investigador hasta el subgrupo definido más pequeño que contiene al microorganismo analizado. En las etapas tempranas de este proceso, los microorganismos pueden asignarse a subgrupos con base en características que no reflejan una cercanía genética. Por ejemplo, estaría muy justificada como una clave para bacterias, incluir a un grupo de "bacterias formadoras de pigmentos rojos" aun cuando abarcara a bacterias tan diferentes como *Serratia marcescens* (capítulo 16) y bacterias púrpura fotosintéticas (capítulo 6). Estos dos conjuntos bacterianos ocupan nichos distintos y dependen de un metabolismo energético muy diferente; no obstante, la agrupación preliminar de estas bacterias sería útil porque permitiría de inmediato al investigador, quien tiene que identificar un cultivo con pigmento rojo, limitar la búsqueda a pocos tipos.

Taxonomía numérica

La taxonomía numérica (llamada también taxonomía computarizada, fenética o taxometría) se usó ampliamente en el decenio de 1960-69. Los esquemas de clasificación numérica emplean un número grande (100 o más) de características taxonómicamente útiles a las que se les ha dado el mismo valor. La computadora agrupa a las distintas cepas en niveles seleccionados de semejanza global (por lo general más de 80% en el nivel de especie) con base en la frecuencia con la cual comparten dichas características. Además, la clasificación numérica proporciona un porcentaje de frecuencias de los caracteres positivos para todas las cepas dentro de cada grupo. Estos datos proporcionan una base para la construcción de una matriz de frecuencia para identificar las cepas desconocidas contra la *taxa* definida. La identificación computarizada se ha utilizado para desarrollar pruebas diagnósticas que identifican aislamientos clínicamente relevantes mediante códigos numéricos o sistemas de probabilidad.

Clasificaciones filogenéticas: hacia la comprensión de las interrelaciones evolutivas entre las bacterias

Las clasificaciones filogenéticas son medidas de la divergencia genética de distintos filos (divisiones biológicas). El vínculo filogenético cercano de dos microorganismos significa que comparten un ancestro reciente y los registros de fósiles han permitido que estas inferencias sean fáciles de hacer para la mayor parte de los representantes de los vegetales y animales. No existe este tipo de registros para las bacterias y una evidencia molecular, puede ser difícil distinguir entre una

evolución convergente o divergente de las características bacterianas.

Las propiedades genéticas de las bacterias pueden permitir que algunos genes se intercambien entre microorganismos que tengan un parentesco lejano. Además, la multiplicación de las bacterias es casi completamente vegetativa y sus mecanismos de intercambio genético rara vez incluyen la recombinación entre porciones grandes de sus genomas (capítulo 7). Por tanto, el concepto de especie—unidad fundamental de las filogenias de eucariontes—tiene un significado distinto cuando se aplica a las bacterias. Una especie eucarionte es un grupo biológico que puede interprocrear para producir una descendencia viable. La actual definición de especie para bacterias es pragmática, funcional, de aplicación universal y sirve bien a la comunidad. Una especie es una categoría que circunscribe a un grupo de aislamientos individuales, genómicamente congruentes, o a colonias que comparten un alto grado de similitud en muchos aspectos independientes. Se ha puesto a prueba bajo condiciones estrictamente estandarizadas. La decisión de circunscribir a los grupos de microorganismos dentro de una especie bacteriana la toma el taxónomo, quien puede elegir subdividir al grupo en biotipos y agrupar especies en géneros. También pueden proponerse grupos más amplios, como las familias.

Las categorías utilizadas en la taxonomía de las bacterias se citan en el cuadro 3-1. Para fines prácticos sólo se usan la familia, el género y la especie.

Existe una gran diversidad genética entre las bacterias. La caracterización química del DNA bacteriano reveló una amplia variedad de posibilidades en la composición de los nucleótidos cuando se comparó el DNA de diversas procedencias bacterianas. La composición de G (guanina) y C (citósina) del DNA de un mismo origen fue siempre la misma, lo mismo ocurrió con la composición de A (adenina) y T (timina). Estos datos proporcionaron una pista importante respecto de la hibridación de las cadenas complementarias en la estructura física del DNA (capítulo 7). La evidencia también mostró que el contenido de G + C de bacterias cercanamente emparentadas era similar. Éste fue el primer indicio de que las propiedades químicas del DNA de diferentes microorganismos podrían ser una expresión de su cercanía genética. Los estudios físicos revelaron que la similitud del DNA de microorganismos semejantes podría discernirse al medir la capacidad de su DNA cromosómico para hibridar de forma cruzada. En la actualidad, la similitud del parámetro DNA-DNA y cuando se puede determinar, la diferencia en el punto medio de desnaturalización térmica (ΔT_m) son los estándares para la delineación de la especie.

La secuencia de DNA se ha convertido en un procedimiento de rutina en el laboratorio y la comparación de las

Cuadro 3-1. Intervalos taxonómicos

Intervalo formal	Ejemplo
Reino	Procarionte
División	Gracilicutes
Clase	Escotobacterias
Orden	Eubacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>coli</i>

secuencias de DNA de genes divergentes puede dar una medida de su parentesco. Los genes para funciones diferentes han divergido a tasas distintas; pero, en general, las tasas son similares. En consecuencia, las diferencias en las secuencias de DNA entre genes que divergen con rapidez pueden usarse para establecer la distancia genética grupos de bacteria muy relacionados y las diferencias en las secuencias entre genes que divergen con lentitud pueden usarse para medir la cercanía entre grupos de bacterias muy divergentes.

Los ribosomas desempeñan una función esencial en la síntesis de las proteínas. Los genes que codifican RNA y proteínas ribosomales se han conservado a lo largo de la evolución y se han separado más lentamente que otros genes cromosómicos. La comparación de la secuencia de los nucleótidos del RNA ribosomal 16S de diversas fuentes biológicas reveló relaciones evolutivas entre organismos muy divergentes y ha permitido decidir a un nuevo reino, las arqueobacterias.

Recientemente, la hibridación de DNA en arreglos oligonucleotídicos de alta densidad (biochips) se ha empleado para identificación de especies.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Manual de bacteriología sistemática de Bergey)

La posibilidad de que se puedan derivar inferencias acerca de las relaciones filogenéticas entre las bacterias se refleja en la organización de la edición más reciente del *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, publicado en cuatro volúmenes desde 1984 hasta 1989. Publicado originalmente en 1923, el *Manual* es un esfuerzo por clasificar a bacterias conocidas y hacer accesible esta información bajo la forma de una clave. Un volumen publicado en 1994, el *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Manual de bacteriología determinativa de Bergey), sirve como un auxiliar en la identificación de las bacterias que se han descrito y cultivado.

En 1980, el *International Committee on Systematic Bacteriology* publicó una lista aprobada de nombres de bacterias. Esta lista, de alrededor de 2 500 especies, reemplaza a una primera que había crecido con más de 30 000 nombres; desde el 1 de enero de 1980, sólo la nueva lista se considera válida.

Como es probable que la información emergente respecto de las relaciones filogenéticas conduzca a más modificaciones en la organización de los grupos bacterianos dentro del *Bergey's Manual*, sus designaciones deben considerarse como provisionales.

DESCRIPCIÓN DE LAS PRINCIPALES CATEGORÍAS Y GRUPOS DE BACTERIAS

Como se expone en el capítulo 2, hay dos grupos distintos de microorganismos procariontes: eubacterias y arqueobacterias. Las eubacterias comprenden a las bacterias más comunes, es decir, aquellas con las cuales la mayoría de las personas está familiarizada. Las arqueobacterias no producen peptidoglicano, lo que es una diferencia importante entre ellas y las eubacterias típicas. También difieren de las eubacterias por habitar en ambientes extremos (p. ej., temperatura alta, gran

salinidad, o pH bajo) y efectuar reacciones metabólicas poco comunes, como la formación de metano. En el cuadro 3-2 se presenta una guía de las cuatro categorías principales de bacterias y de los grupos que las constituyen. Dichas categorías se basan en las características de la pared celular: eubacterias gramnegativas con paredes celulares, eubacterias grampositivas con paredes celulares, eubacterias carentes de paredes celulares y las arqueobacterias.

Eubacterias gramnegativas que tienen paredes celulares

Este es un grupo heterogéneo de bacterias que tienen una envoltura celular compleja (tipo gramnegativa) constituida por una membrana externa, una capa delgada e interna de peptidoglicano (que contiene ácido murámico y está presente en todos los microorganismos, excepto en los que han perdido esta porción de la envoltura celular) y una membrana citoplásmica. La forma celular (figura 3-1) puede ser esférica, oval, como bacilos rectos o curvos, helicoidal o filamentosos; algunas de estas formas pueden estar envueltas en vainas o encapsuladas. La reproducción se realiza por fisión binaria, pero algunos grupos se reproducen por gemación. Las mixobacterias pueden formar cuerpos fructíferos o esporas. La movilidad, cuando existe, se realiza por medio de flagelos o por deslizamiento. Los miembros de esta categoría pueden ser bacterias fototróficas o no fototróficas (capítulo 5), e incluyen especies aeróbicas, anaerobias, anaerobias facultativas y microaerófilas; algunos miembros son parásitos intracelulares obligados.

Eubacterias grampositivas que tienen paredes celulares

Estas bacterias tienen un perfil de pared celular del tipo grampositivo; en general las células se tiñen, pero no siempre, de manera grampositiva. Las células pueden ser esféricas, o en forma de bacilos o filamentosos (figura 3-1); los bacilos y los filamentosos pueden no ramificarse o mostrar una ramificación verdadera. La reproducción se realiza generalmente por fisión binaria. Algunas bacterias en esta categoría producen esporas como formas de reposo (endosporas). Estos microorganismos son generalmente heterótrofos quimiosintéticos (capítulo 5), e incluyen especies aeróbicas, anaerobias y anaerobias facultativas. Los grupos dentro de esta categoría incluyen bacterias asporógenas y esporógenas simples, actinomicetos estructuralmente complejos y otros de esta familia.

Eubacterias que carecen de paredes celulares

Son microorganismos carentes de paredes celulares (denominados comúnmente micoplasmas, y constituyen la clase *Mollicutes*) y que no sintetizan a los precursores del peptidoglicano. Están recubiertas por una membrana unitaria. La membrana plasmática (figura 3-2). Semejan a las formas L (capítulo 26), que pueden ser generadas por muchas especies de bacterias (notablemente las eubacterias grampositivas); sin embargo, a diferencia de las formas L, nunca

Cuadro 3-2. Principales categorías y grupos de bacterias que causan enfermedad en seres humanos, usados como un esquema de identificación en *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed

I. Eubacterias gramnegativas que tienen paredes celulares	
Grupo 1: Espiroquetas	<i>Treponema</i> <i>Borrelia</i> <i>Leptospira</i>
Grupo 2: Aerobias/microaerófilas, helicoides motiles/bacterias vibroides gramnegativas	<i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter</i> <i>Spirillum</i> Ninguna
Grupo 3: Bacterias curvas no motiles (o pocas veces motiles)	<i>Alcaligenes</i> <i>Bordetella</i> <i>Brucella</i> <i>Francisella</i> <i>Legionella</i> <i>Moraxella</i> <i>Neisseria</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Rochalimaea</i>
Grupo 4: Aerobios gramnegativos/bacilos y cocos microaerófilos	<i>Bacteroides</i> (algunas especies) <i>Escherichia</i> (y bacterias coliformes relacionadas) <i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i> <i>Providencia</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Yersinia</i> <i>Vibrio</i> <i>Haemophilus</i> <i>Pasteurella</i>
Grupo 5: Bacilos gramnegativos anaerobios facultativos	<i>Bacteroides</i> <i>Fusobacterium</i> <i>Prevotella</i> Ninguna
Grupo 6: Bacilos gramnegativos, anaerobios, rectos, curvos y helicoides	<i>Ninguna</i> <i>Ninguna</i> <i>Rickettsia</i> <i>Coxiella</i> <i>Chlamydia</i> Ninguna
Grupo 7: Bacterias desasimiladoras de sulfato o reductoras de azufre	Ninguna
Grupo 8: Cocos gramnegativos anaerobios	Ninguna
Grupo 9: <i>Rickettsias</i> y clamidias	<i>Rickettsia</i> <i>Coxiella</i> <i>Chlamydia</i> Ninguna
Grupo 10: Bacterias fototróficas anoxigénicas	Ninguna
Grupo 11: Bacterias fototróficas oxigénicas	Ninguna
Grupo 12: Bacterias quimiolitotróficas aerobias y microorganismos variados	Ninguna
Grupo 13: Bacterias con gemación o apéndice	Ninguna
Grupo 14: Bacterias con envolturas	Ninguna
Grupo 15: Bacterias con deslizamiento no fotosintéticas, sin órgano fructífero	<i>Capsocytophaga</i> Ninguna
Grupo 16: Bacterias deslizantes con órgano fructífero: mixobacterias	Ninguna
II. Bacterias grampositivas que tienen paredes celulares	
Grupo 17: Cocos grampositivos	<i>Enterococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i> <i>Erysipelothrix</i> <i>Listeria</i> <i>Actinomyces</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Mobiluncus</i> <i>Mycobacterium</i> <i>Nocardia</i> <i>Streptomyces</i> <i>Rhodococcus</i>
Grupo 18: Bacilos y cocos grampositivos formadores de esporas	
Grupo 19: Bacilos grampositivos no esporulantes regulares	
Grupo 20: Bacilos grampositivos no esporulantes irregulares	
Grupo 21: Micobacterias	
Grupos 22 a 29: Actinomicetos	
III. Eubacterias sin pared celular: Micoplasmas o mollicutes	
Grupo 30: Micoplasmas	<i>Mycoplasma</i> <i>Ureaplasma</i>
IV. Arqueobacterias	
Grupo 31: Metanógenas	Ninguna
Grupo 32: Reductores arcaicos de sulfato	Ninguna
Grupo 33: Arqueobacterias extremadamente halófilas	Ninguna
Grupo 34: Arqueobacterias con menor pared celular	Ninguna
Grupo 35: Metabolizadores de azufre extremadamente termófilos e hipertermófilos	Ninguna

Cuadro 3-3. Algunas características compartidas por arqueobacterias y células eucariotas ausentes en eubacterias

Característica	Eubacterias	Arqueobacterias, eucariotas
El factor-2 de alargamiento (EF-2) contiene al aminoácido diftami- da y, por tanto, es ADP- ribosilable por la toxina diftérica	No	Sí
El iniciador metionil tRNA no está formilado	No	Sí
Algunos genes del tRNA contienen intrones	No	Sí
La síntesis proteínica se inhibe por anisomicina, pero no por cloranfe- nol	No	Sí
Las RNA polimerasas dependientes del DNA son enzimas con múlti- ples subunidades y son insensibles a los anti- bióticos rifampicina y estreptolidigina	No	Sí

revertien al estado en el cual tienen una pared y no hay interrelaciones antigénicas entre los micoplasmas y las formas L eubacterianas.

Se han designado seis géneros como micoplasmas (capítulo 26) con base en su hábitat y requerimientos de colesterol: no obstante, sólo dos contienen patógenos animales. Los micoplasmas son microorganismos muy pleomorfos y varían en tamaño desde formas similares a vesículas hasta formas filtrables muy pequeñas (0.2 μm). La reproducción puede hacerse por medio de gemación, fragmentación o fisión binaria, de manera simple o en combinación. La mayor parte

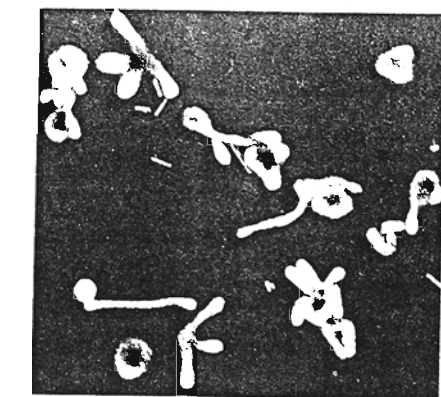


Figura 3-2. Micrografía electrónica de células de un miembro del grupo *Mycoplasma*, el agente de la bronconeumonía de la rata (1960 x). (Reproducida con autorización de Klieneberger-Nobel E. Cuckow FW: A study of organisms of the pleuropneumonia group by electron microscopy. J Gen Microbiol 1955;12:99.)

de las especies requiere un medio complejo para proliferar y tiende a formar colonias típicas en "huevo frito" sobre un medio sólido. Una característica singular de los mollicutes es que algunos géneros requieren colesterol para proliferar; si está presente en el medio de cultivo, el colesterol no esterificado es un componente singular de las membranas, tanto de las especies que requieren esterol como de las que no lo requieren.

Arqueobacterias

Estos microorganismos procariontes son, predominantemente, habitantes de ambientes terrestres y acuáticos extremo-



Figura 3-1. Las formas celulares en las bacterias verdaderas unicelulares. A. Cocos. B. Bacilos. C. Espirales. (Contraste de fases 1500 x.) (Reproducida con autorización de Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA: *The Microbial World*, 3rd ed. Copyright © 1970. Por permiso de Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ.)

osos (alta salinidad, alta temperatura, anaerobiosis) algunos son simbiontes en el aparato digestivo de los animales. Las arqueobacterias están constituidas por microorganismos aerobios, anaerobios y anaerobios facultativos que son quimiolitótrofos, heterótrofos o heterótrofos facultativos (capítulo 5). Ciertas especies son mesófilas, mientras que otras pueden proliferar a temperaturas superiores a 100 °C. Estas arqueobacterias hipertermófilas están singularmente adaptadas para proliferar y multiplicarse a temperaturas altas. Con pocas excepciones, las enzimas aisladas de estos microorganismos son intrínsecamente más termoestables que su contraparte de los microorganismos mesófilos. Algunas de estas enzimas termoestables, como la DNA polimerasa del *Thermus aquaticus* (Taq polimerasa) son un componente importante de los métodos de amplificación del DNA, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las arqueobacterias pueden diferenciarse de las eubacterias, en parte, por la carencia de una pared celular de peptidoglucano, la posesión de diéter isoprenoide o lípidos de tetraéter diglicerol y por secuencias características del rRNA. Las arqueobacterias también comparten algunas características moleculares con los eucariotes (cuadro 3-3). Las células pueden tener diversas formas que incluyen la esférica, espiral, plana o bacilar; también pueden presentarse formas unicelulares y multicelulares en filamentos y agregados. La multiplicación se realiza ya sea por fisión binaria, gemación, constricción, fragmentación o por mecanismos desconocidos.

SUBTIPIFICACIÓN Y SU APLICACIÓN

Bajo ciertas circunstancias (como en una epidemia) es importante diferenciar entre cepas de una especie dada o identificar a una cepa en particular. Esto se denomina subtipificación y se hace al investigar en los aislamientos bacterianos las características que permitan distinguir por abajo del nivel de especie. Para que cualquier sistema de subtipificación sea eficaz debe diferenciar a los microorganismos aislados del caso en estudio de los que no lo son. Típicamente, la subtipificación se ha realizado por medio de biotipificación, serotipificación, pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, tipificación por bacteriófagos y tipificación de bacteriocinas. Por ejemplo, se han identificado más de 130 serogrupos de *Vibrio cholerae* con base en diferencias antigénicas en el polisacárido O del LPS; sin embargo, sólo los serogrupos O1 y O139 se han relacionado con el cólera epidémico y pandémico. Dentro de estos serogrupos, sólo son virulentas las cepas que producen toxina colérica y causan cólera; se han aislado cepas de *V. cholerae* O1 no toxigénicas en muestras ambientales, en alimentos y pacientes con diarrea esporádica que no se vinculan con el cólera epidémico.

La clonalidad respecto de los aislamientos de microorganismos de un brote de origen común es un concepto importante en la epidemiología de las enfermedades infecciosas. La exposición a una fuente común de un agente etiológico se ha relacionado con múltiples brotes de infecciones. En general, estos microorganismos infecciosos son clonales, en otras palabras, son la progenie de una sola célula y,

por tanto, desde el punto de vista práctico son idénticos genéticamente. Por tanto, la subtipificación desempeña una función importante en la identificación de estos microorganismos particulares. Los avances recientes en la biotecnología han mejorado drásticamente la capacidad para subtipificar microorganismos. La tecnología del hibridoma ha desarrollado anticuerpos monoclonales contra antígenos de la superficie celular, utilizados para crear sistemas de subtipificación muy estandarizados de anticuerpos basados en serología.

La electroforesis con enzimas de locus múltiples (MLEE; del inglés, *multilocus enzyme electrophoresis*), método común para estudiar la genética de la población eucariote, también se ha empleado para estudiar la diversidad genética y la estructura clonal de microorganismos patógenos. La MLEE implica la determinación de la movilidad de un conjunto de enzimas solubles (generalmente de 15 a 25 enzimas) mediante electroforesis en gel de almidón. Como la velocidad de migración de una proteína durante la electroforesis y su carga electrostática neta dependen de su secuencia de aminoácidos, las variantes de una enzima en la movilidad (referidos como electromorfos o alozimas) se deben a sustituciones de aminoácidos en la secuencia del polipéptido, lo que refleja cambios en la secuencia del DNA codificante del polipéptido. Los genes estructurales codificantes de enzimas de *Escherichia coli* manifiestan una diversidad genética extensa; sin embargo, mediante el empleo de MLEE, los investigadores de los *Centers for Disease Control* pudieron determinar que las cepas de la *E. coli* serotipo O157:H7, un patógeno conocido recientemente y vinculado con brotes de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (capítulo 16), provenían de una clona ampliamente distribuida en Norteamérica.

La caracterización o identificación de aislamientos ha sido mejorada aplicando métodos para células procariontes, como la espectroscopia infrarroja transformada por Fourier (FTIR; del inglés *Fourier transformed infrared spectroscopy*), la espectrometría de masas con ionización desorción de láser asistida por matriz en tiempo de vuelo (MALDI/TOF; del inglés *matrix-assisted laser desorption/ionization with time of flight*) o espectrometría de masa por ionización en rocío.

Los avances logrados en el aislamiento, amplificación y secuenciación del ácido nucleico desde 1975 han conducido al desarrollo de sistemas de subtipificación basados en este ácido. Éstos incluyen el análisis del perfil del plásmido, el análisis por endonucleasas de restricción, la ribotipificación, la electroforesis en gel por campos pulsados, la amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la digestión con endonucleasas de restricción de genes específicos, la PCR con nucleótidos de complementariedad arbitraria y el análisis de la secuencia del ácido nucleico. El análisis del perfil del plásmido fue la primera técnica y la más simple, basada en el DNA, aplicada a estudios epidemiológicos. Los plásmidos, que son elementos genéticos extracromosómicos, se recuperan de cada aislamiento y se separan luego mediante electroforesis en gel de agarosa para determinar su cantidad y tamaño. Sin embargo, en muchas bacterias pueden existir plásmidos del mismo tamaño, pero con secuencia o función muy diferentes. Por tanto, la digestión de los plásmidos con endonucleasas de restricción y la comparación posterior de la cantidad y el

tamaño de los fragmentos de restricción obtenidos aporta información útil adicional. Se ha observado que el análisis de plásmidos es más útil para el estudio de brotes restringidos en tiempo y lugar (p. ej., un brote en un hospital) y cuando se combina con otros métodos de subtipificación.

El uso de **endonucleasas de restricción** para cortar al DNA en fragmentos pequeños es uno de los procedimientos básicos en la biología molecular. Las endonucleasas de corte reconocen secuencias cortas del DNA (secuencias de restricción) y cortan al DNA de doble cadena dentro de estas secuencias o junto a ellas. Las secuencias de restricción varían de cuatro a más de 12 bases de longitud y se presentan en toda la extensión del cromosoma bacteriano. Las secuencias de restricción cortas son más frecuentes que las largas. Por tanto, las enzimas que reconocen a las muy comunes secuencias de restricción de cuatro pares de bases producen más fragmentos que aquellas que reconocen a las más raras, de ocho pares de bases. Varios métodos de subtipificación emplean DNA digerido por endonucleasas de restricción. El método básico incluye la digestión del DNA con una enzima que reconoce un sitio de restricción presente con frecuencia, y su separación en centenares de fragmentos que varían de aproximadamente de 0.5 a 50 Kb de longitud mediante electroforesis en gel de agarosa, seguida de la observación con luz ultravioleta después de la tinción con bromuro de etidio. Uno de los principales factores limitantes de esta técnica es la dificultad para interpretar los complejos perfiles formados por centenares de bandas que pueden no estar definidas y traslaparse. Este problema se ha superado con el uso de endonucleasas de restricción que cortan en sitios presentes con poca frecuencia. La digestión del DNA con estas enzimas produce generalmente de 5 a 20 fragmentos con 10 a 800 Kpb de longitud. La separación de estos fragmentos grandes de DNA se logra mediante una técnica denominada **electroforesis en gel de campos pulsados** (PFGE, del inglés *pulsed field gel electrophoresis*), que requiere un equipo especializado. Técnicamente, todos los aislamientos bacterianos se pueden tipificar por este método. Su ventaja es que el perfil de restricción está constituido por pocas bandas bien definidas que representan la totalidad del cromosoma bacteriano en un solo gel.

El análisis por **Southern blot** (que lleva el nombre del investigador que desarrolló esta técnica) se ha empleado como un método de subtipificación para identificar aislamientos vinculados con brotes. Después de la electroforesis en gel de agarosa, los fragmentos de restricción separados se transfieren a una membrana de nitrocelulosa o de nailon. Con el uso de un fragmento marcado de DNA como sonda, se pueden identificar los fragmentos de restricción que contienen secuencias (*loci*) homólogos a la sonda. Las variaciones en el número y en el tamaño de estos fragmentos se conocen como **polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción** (RFLP; del inglés *restriction fragment length polymorphisms*) y estos últimos reflejan variaciones tanto en el número de *loci* homólogos a la sonda, como en la localización de los sitios de restricción presentes dentro de estos *loci*, o adyacentes a ellos. La **ribotipificación** es un método que usa el análisis mediante *Southern blot* para localizar polimorfismos de genes del rRNA, los cuales están presentes en todas las bacterias. Como las secuencias ribosómicas están muy conservadas, pueden detectarse con una

sonda común preparada del rRNA 16S y 23S de la *E. coli*. Muchos microorganismos tienen copias múltiples (de 5 a 7) de estos genes, lo cual origina patrones con un número suficiente de bandas que permiten una buena diferenciación, sin embargo, la ribotipificación tiene valor limitado en el caso de algunos microorganismos, como las micobacterias, que tienen sólo una copia de estos genes.

La PCR ha demostrado su utilidad para detectar e identificar agentes infecciosos sin la necesidad de practicar cultivos (véase después). También se ha empleado en varios métodos de subtipificación. El uso más común de la PCR implica amplificar secuencias específicas, la digestión subsiguiente del producto de la amplificación con endonucleasas de restricción y el análisis de los fragmentos producidos por medio de electroforesis. Un ejemplo del uso de este método es el hecho de que el patrón de los fragmentos de restricción del gen de la proteína principal de la membrana externa (MOMP; del inglés *major outer membrane protein*) de *Chlamydia trachomatis* puede correlacionarse con los resultados de un sistema de serotipificación basado en la MOMP. De esta manera, la *C. trachomatis* (un parásito intracelular obligado) puede tipificarse con rapidez con propósitos epidemiológicos o de otra naturaleza directamente de las muestras clínicas sin necesidad de cultivo.

El campo de la microbiología forense se desarrolló tras los ataques bioterroristas con esporas de *Bacillus anthracis* en el otoño del 2001. La microbiología forense es parte de la investigación criminológica e involucra el uso de muchas de las técnicas anteriormente descritas para identificar la colonia precisa y la subcolonia del microorganismo utilizado en un biocrimen para identificar su significado forense: el origen de los perpetradores del ataque.

MÉTODOS SIN CULTIVO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS

Los intentos para estimar el número total de bacterias, arqueobacterias y virus son frustrantes debido a dificultades tales como la detección en y recuperación desde su ambiente, nuestro conocimiento incompleto de las asociaciones microbianas obligadas y el problema del concepto de especie en estos grupos. No obstante, las estimaciones sugieren que los números de *taxa* microbianas no cultivadas sobrepasan grandemente a aquellos organismos cultivados (cuadro 3-4). Hasta hace poco, la identificación microbiana necesitaba el aislamiento de un cultivo puro (o, en algunos casos cocultivos definidos) seguido de pruebas para múltiples características fisiológicas o bioquímicas. Los médicos saben bien que existen enfermedades vinculadas con microorganismos visibles pero no cultivables. Los científicos emplean ahora un método basado en la PCR que utiliza rRNA para identificar microorganismos patógenos *in situ*. La primera fase de este método implica la extracción del DNA de una muestra adecuada, el uso de técnicas moleculares estándar para obtener una biblioteca de la clona, la recuperación de la información de la secuencia del rDNA y el análisis comparativo de las secuencias obtenidas. Esto genera información acerca de la identidad u homología de

Cuadro 3-4. Números conocidos y estimados de especies biológicas

Grupo	Especies conocidas	Especies estimadas totales	Porcentaje de especies conocidas
Virus	5 000	130 000	4%
Bacterias	4 760	40 000	12%
Hongos	69 000	1 500 000	5%
Algas	40 000	60 000	67%
Protozoarios	30 800	100 000	31%

Modificado con autorización de Bull AT et al.: Biodiversity as a source of innovation in biotechnology. Ann Rev Microbiol 1992;46:219.

las secuencias en comparación con la base de datos disponible. En una segunda fase, la prueba de que las secuencias provienen de células de la muestra original se obtiene por hibridación *in situ* mediante el uso de sondas específicas para las secuencias. Este método se ha utilizado en la identificación de microorganismos patógenos. Por ejemplo, un actinomiceto no caracterizado previamente se ha identificado como el bacilo vinculado con la enfermedad de Whipple para el cual se ha propuesto el nombre de *Tropheryma whippelii*. El método con rRNA también se ha utilizado para identificar al agente causal de la angiomatosis bacilar como la *Bartonella henselae* y para demostrar que el patógeno oportunista *Pneumocystis carinii* es un miembro del grupo de los hongos.

Preguntas de revisión

- Las eubacterias que carecen de pared celular y no sintetizan los precursores del peptidoglucano se llaman:
 - Espiroquetas
 - Clamidas
 - Micoplasmas
 - Formas L
 - Bacilos
 - Las arqueobacterias pueden ser distinguidas de las eubacterias por su carencia de
 - Cápsulas
 - Flagelos
 - Ribosomas
 - Peptidoglucano
 - RNA de transferencia
 - Una paciente de 16 años de edad con fibrosis quística es admitida en el hospital. En un cultivo de esputo se identifica *Burkholderia cepacia*. Posteriormente, otros dos
- pacientes presentan bacteremia por *B. cepacia*; luego, el organismo es cultivado del esputo de cuatro pacientes más. Durante este brote nosocomial debido a *B. cepacia*, 50 aislamientos ambientales y siete aislamientos de pacientes se subtipifican para identificar el origen del brote. ¿Cuál de las siguientes técnicas sería más útil en este propósito?
- Cultivo
 - Ribotipificación
 - rRNA 16S secuencial
 - Prueba de vulnerabilidad a los antimicrobianos
 - Secuenciación de ácidos nucleicos
4. Un microorganismo grampositivo no cultivado ha sido visto en especímenes de tejido obtenido de pacientes con una enfermedad no diagnosticada previamente. ¿Cuál de las siguientes técnicas sería más útil para identificar este organismo?
- Serología
 - Amplificación PCR y secuenciación del rDNA
 - Electroforesis con enzimas de locus múltiples
 - Electroforesis en gel con SDS poliacrilamida
 - Electroforesis en gel por campos pulsados
5. La polimerasa del DNA del *Thermus aquaticus* es un componente importante de los métodos de amplificación del DNA, tales como la reacción en cadena de la polimerasa. Este organismo es capaz de crecer a temperaturas por arriba de 100 °C. ¿Cómo se denomina a los organismos capaces de crecer a estas temperaturas?
- Mesófilos
 - Psicrófilos
 - Halófilos
 - Termófilos
 - Quimiolitótrofos

Respuestas: 1 = C; 2 = D; 3 = E; 4 = B; 5 = D.

REFERENCIAS

Libros

- Balows A et al. (editors): *The Prokaryotes*, 2nd ed. A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications. Springer, 1991.
- Goodfellow M, O'Donnell AG (editors): *Handbook of New Bacterial Systematics*. Academic Press, 1993.
- Holt JG et al. (editors): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, 1994.
- Keim P (editor): *Microbial Forensics: A Scientific Assessment*. American Society for Microbiology, 2003.
- Krieg NR (editors): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1st ed. Vol 1. Williams & Wilkins, 1984.
- Persing DH et al. (editors): *Diagnostic Molecular Microbiology. Principles and Applications*. American Society for Microbiology, 1993.
- Sneath PHA et al. (editor): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1st ed. Vol 2. Williams & Wilkins, 1986.
- Staley JT et al. (editors): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1st ed. Vol 3. Williams & Wilkins, 1989.
- Williams ST et al. (editors): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 1st ed. Vol 4. Williams & Wilkins, 1989.

Artículos y revistas

- Amann RI, Ludwig W, Schleiffer K-H: Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev* 1995;59:143.
- Bull AT *et al.*: Biodiversity as a source of innovation in biotechnology. *Ann Rev Microbiol* 1992;46:219.
- Edman JC *et al.*: Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. *Nature (London)* 1988;334:519.
- Fredricks DN, Relman DA: Sequence-based identification of microbial pathogens: a reconsideration of Koch's postulates. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:18.
- Gürtler V, Mayall BC: Genomic approaches to typing, taxonomy and evolution of bacterial isolates. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001;51:3.
- Maslow JN, Mulligan ME, Arbeit RD: Molecular epidemiology: Application of contemporary techniques to the typing of microorganisms. *Clin Infect Dis* 1993;17:153.
- Mayer LW: Use of plasmid profiles in epidemiologic surveillance of disease outbreaks in tracing the transmission of antibiotic resistance. *Clin Microbiol Rev* 1988;1:228.
- Roselló-Mora R, Amann R: The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiol Rev* 2001;25:39.
- Stinger JR *et al.*: A new name (*Pneumocystis jirovecii*) for pneumocystis from humans. *Emerg Infect Dis* 2002;8:891.

Crecimiento, supervivencia y muerte de los microorganismos

SUPERVIVENCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN EL AMBIENTE NATURAL

La población de microorganismos en la biosfera es regularmente constante: su crecimiento se encuentra equilibrado por la muerte. La supervivencia de cualquier grupo microbiano dentro de su nicho depende, en gran parte, de la competencia exitosa por los nutrientes y de la conservación de una reserva de células vivas durante la privación nutricional. Cada vez está más claro que muchos microorganismos existen en asociaciones formadas por representantes de diferentes géneros: otros, caracterizados a menudo como células únicas en el laboratorio, forman colonias adherentes en el ambiente natural.

La mayor parte de los conocimientos acerca de fisiología microbiana han derivado del estudio de líneas celulares aisladas que crecen en condiciones óptimas, y dichos conocimientos son la base de esta sección. De todas maneras, cabe recordar que muchos microorganismos compiten en el ambiente natural en condiciones de tensión nutricional, circunstancia que puede producir un estado fisiológico muy distinto al observado en el laboratorio. Más aún, debe reconocerse que cualquier nicho microbiano vacante se llena pronto. Los procedimientos de salud pública para eliminar a los microorganismos patógenos mediante depuración de su nicho probablemente tengan menos éxito que los métodos que dejan el nicho ocupado por competidores no patógenos que tengan ventaja sobre los patógenos.

SIGNIFICADO DEL CRECIMIENTO

El crecimiento es el incremento ordenado de todos los componentes de un microorganismo. Por tanto, el aumento de tamaño que resulta cuando una célula capta agua o deposita lípidos o polisacáridos no es un crecimiento verdadero. La multiplicación celular es una consecuencia del crecimiento; en microorganismos unicelulares, la multiplicación au-

menta la cantidad de individuos y da lugar a una población o cultivo.

Medición de las concentraciones microbianas

Las concentraciones microbianas pueden medirse en términos de concentración celular (número de células viables por unidad de volumen de cultivo) o de concentración de la biomasa (peso seco de las células por unidad de volumen de cultivo). Estos dos parámetros no siempre son equivalentes, porque el promedio del peso seco de la célula varía en las distintas etapas de la historia del cultivo. Tampoco tienen el mismo significado: en estudios de genética microbiana o de inactivación de las células, la cantidad importante es la concentración celular; en estudios de bioquímica o nutrición microbiana la cantidad importante es la concentración de la biomasa.

A. Concentración celular

La cifra de células viables (cuadro 4-1) se considera la medida de la concentración celular. Sin embargo, para muchos propósitos, la turbiedad del cultivo, medida por medios fotoeléctricos, puede vincularse con la cifra viable en forma de *curva estándar*. A veces es posible efectuar una estimación visual aproximada: la suspensión apenas turbia de *Escherichia coli* contiene cerca de 10^7 células por mililitro y la suspensión bastante turbia contiene casi 10^8 células por mililitro. Cuando se utilizan mediciones turbidimétricas debe recordarse que puede variar la correlación entre la turbiedad y la cifra viable durante el crecimiento y la muerte de un cultivo; las células pueden perder viabilidad sin que exista pérdida de la turbiedad del cultivo.

B. Densidad de la biomasa

En principio, la biomasa se puede medir directamente determinando el peso seco de un cultivo microbiano después de lavarlo con agua destilada. En la práctica, este procedimiento es muy laborioso y el investigador suele preparar

Cuadro 4-1. Ejemplo de un conteo viable

Dilución	Conteo en la placa*
Sin diluir	} Demasiado apiñados para contarlos
10^{-1}	
10^{-2}	
10^{-3}	
10^{-4}	
10^{-5}	510
	72
	6
	1

* Cada cifra es el promedio de tres placas replicadas.

una curva estándar que establece una correlación entre el peso seco y la turbiedad. De otra manera, se puede estimar indirectamente la concentración de la biomasa a través de la medición de un componente celular importante como las proteínas, o del volumen ocupado por las células que han sedimentado fuera de la suspensión.

CRECIMIENTO EXPONENCIAL

La constante de la tasa de crecimiento

La tasa de crecimiento de las células, no limitado por los nutrientes, es de primer orden: la tasa de crecimiento (medida en gramos de biomasa producida por hora), es el producto de la constante de la tasa de crecimiento, k , y la concentración de la biomasa, B :

$$\frac{dB}{dt} = kB \quad (1)$$

El reordenamiento de la ecuación 1 demuestra que la constante de la tasa de crecimiento es la tasa a la cual las células producen más células:

$$k = \frac{Bdt}{dB} \quad (2)$$

Una constante de crecimiento de 4.3 h^{-1} , una de las más grandes registradas, significa que cada gramo de células produce 4.3 g de células por hora durante este período del crecimiento. Los microorganismos de crecimiento lento pueden tener constantes tan bajas como de 0.02 h^{-1} , con lo que cada gramo de células en el cultivo produce 0.02 g de células por hora.

La integración de la ecuación 1 da como resultado:

$$\ln \frac{B_1}{B_0} = 2.3 \log_{10} \frac{B_1}{B_0} = k(t_1 - t_0) \quad (3)$$

El logaritmo natural de la proporción B_1 (la biomasa en el tiempo t_1) sobre B_0 (la biomasa con el tiempo 0 [t_0]) es igual al producto de la constante de la tasa de crecimiento (k) y por la diferencia en tiempo ($t_1 - t_0$). El crecimiento que obedece a la ecuación 3 se denomina exponencial porque la biomasa se incrementa exponencialmente con res-

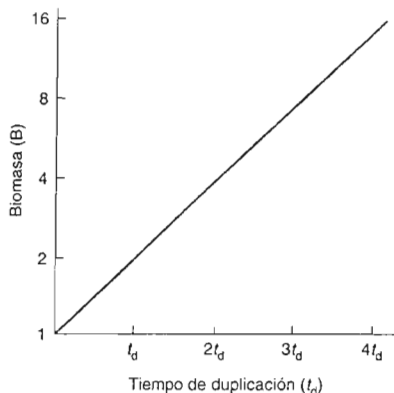


Figura 4-1. Crecimiento exponencial. La biomasa (B) se duplica con cada duplicación del tiempo (t_d).

pecto al tiempo. Pueden hacerse proyecciones lineales del crecimiento exponencial si se gráfica el logaritmo de la concentración de la biomasa (B) como función del tiempo (t).

Cálculo de la constante de la tasa de crecimiento y predicción de la magnitud del mismo

Muchas bacterias se reproducen por fisión binaria, y el tiempo promedio requerido para que la población o biomasa se duplique se conoce como tiempo de generación o tiempo de duplicación (t_d). Por lo general, el t_d se determina al graficar la magnitud del crecimiento sobre una escala semi-logarítmica como función del tiempo; el tiempo requerido para la duplicación de la biomasa es t_d (figura 4-1). La constante de la tasa de crecimiento se puede calcular a partir del tiempo de duplicación, mediante la sustitución del valor 2 por B_1/B_0 y de t_d por ($t_1 - t_0$) en la ecuación 3, lo que da por resultado:

$$\ln 2 = kt_d \quad (4)$$

$$k = \frac{\ln 2}{t_d}$$

Un tiempo rápido de duplicación corresponde a una constante elevada de la tasa de crecimiento. Por ejemplo, el tiempo de duplicación de 10 min (0.17 h) corresponde a una constante de la tasa de crecimiento de 4.1 h^{-1} . El tiempo de duplicación relativamente prolongado de 35 h corresponde a una constante de 0.02 h^{-1} .

La constante de la tasa de crecimiento calculada se puede usar para determinar la magnitud del crecimiento que ocurrirá en un período específico o para calcular el tiempo requerido para un crecimiento determinado.

La magnitud del crecimiento dentro de un período especificado se puede predecir con base en la siguiente redistribución de la ecuación 3:

$$\log_{10} \frac{B_t}{B_0} = \frac{k(t_1 - t_0)}{2.3} \quad (5)$$

Por ejemplo, es posible determinar la magnitud del crecimiento que ocurriría si un cultivo creciera de manera exponencial durante 5 h con una constante de 4.1 h⁻¹:

$$\log_{10} \frac{B_t}{B_0} = \frac{4.1 \text{ h}^{-1} \times 5 \text{ h}}{2.3} \quad (6)$$

En este ejemplo el incremento de la biomasa es de 10⁹; una sola célula bacteriana con un peso seco de 2 × 10⁻¹³ g produciría 0.2 mg de biomasa, una cantidad que poblaría densamente un cultivo de 5 mL. Está claro que no puede conservarse esta magnitud de crecimiento durante un período prolongado. Otras 5 h de crecimiento de esta magnitud producirían un peso seco de la biomasa de 200 kg, lo que constituiría una tonelada de células.

Otro reordenamiento de la ecuación 3 permite calcular el tiempo requerido para que ocurra un crecimiento determinado. En la ecuación 7, que se ilustra a continuación, N_t la concentración de células, se sustituye con B_t la concentración de la biomasa, para permitir el cálculo del tiempo requerido para un aumento especificado en el número de células.

$$t_1 - t_0 = \frac{2.3 \log_{10}(N_t/N_0)}{k} \quad (7)$$

Mediante la ecuación 7 es posible, por ejemplo determinar el tiempo requerido para que un microorganismo de crecimiento lento con tasa de crecimiento constante de 0.02 h⁻¹ se multiplique a partir de una célula hasta formar una suspensión celular relativamente turbia con una concentración de 10⁷ células/mL.

$$t_1 - t_0 = \frac{2.3 \times 7}{0.02 \text{ h}^{-1}} \quad (8)$$

La solución de la ecuación 8 revela que se requerirán cerca de 800 h: es decir, un poco más de un mes, para que tenga lugar un crecimiento de esta magnitud. La supervivencia de los microorganismos de crecimiento lento implica que la carrera por la supervivencia biológica no siempre es rápida; las especies que logran un gran crecimiento son las que compiten con éxito por los nutrientes y evitan la aniquilación por depredadores y otros riesgos ambientales.

CURVA DEL CRECIMIENTO

Si se inocula un medio líquido con células microbianas tomadas de un cultivo que antes ha crecido hasta la saturación, en el cual se ha determinado periódicamente el número de células viables por mililitro y trazado una gráfica de él, por lo general se obtiene una curva como la que se muestra

en la figura 4-2. Se puede describir la curva en seis fases, representadas por las letras A a la F (cuadro 4-2).

Fase de rezago (A)

Representa un periodo durante el cual las células depauperadas de metabolitos y enzimas, como resultado de las condiciones desfavorables existentes al final del cultivo previo, se adaptan a su nuevo ambiente. Se forman enzimas y metabolitos intermedios que se acumulan hasta alcanzar concentraciones que permitan el reinicio del crecimiento.

Si las células se obtienen de un medio enteramente diferente, con frecuencia ocurre que son genéticamente incapaces de crecer en el nuevo medio. En tales casos puede presentarse una fase de rezago más prolongada que representa el periodo necesario para que unas cuantas mutantes del inóculo se multipliquen lo suficiente y aumente el número de células.

Fase exponencial (C)

Durante la fase exponencial, de la cual ya se han descrito los aspectos matemáticos, las células se encuentran en un estado de crecimiento sostenido. Se sintetiza nuevo material celular a una tasa constante, pero éste es en sí catalítico y la masa aumenta de manera exponencial. Esto continúa hasta que sucede una de dos cosas: que uno o más nutrientes del medio se agoten, o que se acumulen productos metabólicos tóxicos e inhiban el crecimiento. Para los microorganismos aerobios, el nutriente que se vuelve limitante es generalmente el oxígeno. Cuando la concentración celular pasa de alrededor de 1 × 10⁷ mL (en el caso de las bacterias), la tasa de crecimiento decrece a menos que se incremente el ingreso de oxígeno al medio por agitación o se haga burbujear aire en el mismo. Cuando la concentración bacteriana alcanza 4 a 5 × 10⁹/mL, la tasa de difusión del oxígeno no puede satisfacer las demandas aun en un medio aireado, y el crecimiento disminuye progresivamente.

Fase estacionaria máxima (E)

Por último, el agotamiento de los nutrientes o la acumulación de productos tóxicos hacen que el crecimiento cese por

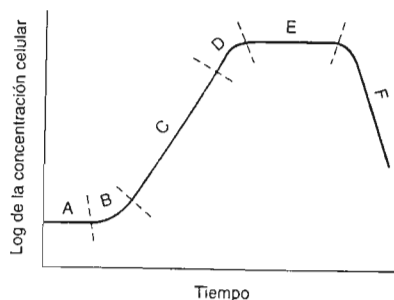


Figura 4-2. Curva de concentración celular.

Cuadro 4-2. Fases de la curva de muerte microbiana

Parte de la curva	Fase	Tasa de crecimiento
A	Rezago	Cero
B	Aceleración	Creciente
C	Exponencial	Constante
D	De retraso	Decreciente
E	Estacionaria máxima	Cero
F	Declinación	Negativa (muerte)

completo. Sin embargo, en la mayor parte de los casos hay recambio celular en la fase estacionaria: existe una pérdida lenta de células por muerte, lo cual se compensa por la formación de nuevas células a través del crecimiento y de la división. Cuando esto ocurre, aumenta poco a poco el número total de ellas, aunque permanece constante la cifra de células viables.

Fase de declinación (fase de muerte, F)

Después de un tiempo en la fase estacionaria, que varía con el microorganismo y las condiciones del cultivo, la tasa de mortalidad aumenta hasta alcanzar un valor sostenido. Los aspectos matemáticos de la fase sostenida de muerte celular en el cultivo se exponen más adelante. Con frecuencia, después de que la mayor parte de las células ha muerto, la tasa de mortalidad disminuye de manera drástica, de tal manera que un pequeño número de sobrevivientes puede persistir en el cultivo por meses o años. En algunos casos esta persistencia puede indicar recambio celular con el crecimiento de unas cuantas células a expensas de los nutrientes liberados por las células que mueren y se lisan.

CONSERVACIÓN DE LAS CÉLULAS EN LA FASE EXPONENCIAL

Las células pueden conservarse en fase exponencial mediante transferencia repetida a un medio fresco de composición idéntica cuando están aún creciendo exponencialmente. Se han ideado dos aparatos para llevar a cabo este procedimiento en forma automática: el quimiostato y el turbidostato.

Quimiostato

Este aparato es un recipiente de cultivo equipado con un sifón para evitar derrame y un mecanismo de goteo de medio fresco desde un reservorio a una tasa regulada. El medio en el recipiente de cultivo se agita por una corriente de aire estéril; cada gota de medio fresco que entra hace salir una gota de cultivo por el sifón.

El medio se prepara de manera que un nutriente limite el crecimiento. Se inocula el recipiente y las células crecen hasta que se agota el nutriente limitante; en ese momento

se permite fluir medio fresco del reservorio a una tasa tal que las células utilizan el nutriente limitante tan pronto como se suministra. En estas condiciones, la concentración celular permanece constante y la velocidad de crecimiento es directamente proporcional a la tasa de flujo del medio.

DEFINICIÓN Y MEDICIÓN DE LA MUERTE

Significado de muerte

Para una célula microbiana, muerte significa la pérdida irreversible de la capacidad para reproducirse (crecer y dividirse). La prueba empírica de la muerte es el cultivo de células en medio sólido: una célula se considera muerta si no puede producir una colonia en cualquier medio. Obviamente, la veracidad de la prueba depende de la elección del medio y de las condiciones; un cultivo en el que 99% de las células aparecen muertas en términos de capacidad para formar colonias en un medio, puede ser 100% viable si se prueba en otro. Además, la detección de células viables en una gran muestra clínica tal vez no sea posible con la siembra directa de la muestra en placa, ya que el líquido mismo de la muestra puede ser inhibitorio para el desarrollo bacteriano. En tales casos, la muestra tiene que diluirse primero en un medio líquido que permita el crecimiento de células viables antes de sembrarla en placa.

Las condiciones de incubación en la primera hora consecutiva al tratamiento también son críticas en la determinación de la muerte. Por ejemplo, si las células bacterianas se irradian con luz UV y se siembran inmediatamente después en cualquier medio, puede ser que 99.99% muera. Por el contrario, si estas células irradiadas se incuban primero en una solución amortiguadora adecuada por 20 min, la siembra indica la muerte de sólo 10%. En otras palabras, la irradiación determina que una célula morirá si se siembra inmediatamente, pero vivirá si se le permite reparar el daño de la radiación antes de la siembra.

Así, una célula microbiana que no está físicamente destruida, sólo está muerta en términos de las condiciones utilizadas para probar su viabilidad.

Medición de la muerte

Cuando se trabaja con microorganismos generalmente no se mide la muerte de una sola célula, sino la de una población. Esto es un problema estadístico: bajo cualquier condición que pueda llevar a la muerte celular, la probabilidad de que una célula muera es constante por unidad de tiempo. Por ejemplo, en condiciones que produzcan la muerte de 90% de las células en los primeros 10 min, la probabilidad de que cualquier célula muera en ese intervalo de 10 min es de 0.9. Por tanto, se puede esperar que 90% de las células sobrevivientes morirá en cada intervalo subsiguiente de 10 min y así se obtendrá una curva de muerte similar a la que se muestra en la figura 4-3.

El número de células que mueren en cada periodo es una función del número de sobrevivientes que se encuentren presentes, de tal manera que la muerte de una pobla-

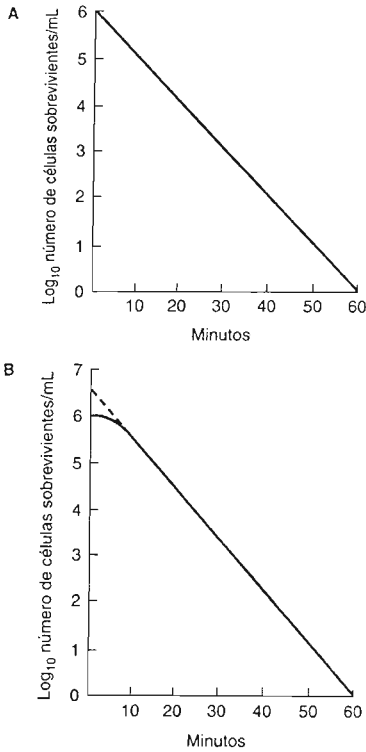


Figura 4-3. Curva de muerte de los microorganismos. **A:** Curva de un solo paso. **B:** Curva multipasos. La porción de línea recta se extrapola a 6.5, correspondiente a 4×10^6 células. Por tanto, el número de blancos es 4×10^6 , es decir, cuatro por célula.

ción prosigue como un proceso exponencial de acuerdo con la fórmula general:

$$S = S_0 e^{-kt} \quad (9)$$

en donde S_0 es el número de sobrevivientes en el tiempo cero, y S es el número de sobrevivientes en cualquier tiempo posterior, t . Como en el caso del crecimiento exponencial, $-k$ representa la tasa de mortalidad exponencial cuando la tracción $\ln(S/S_0)$ se grafica como función del tiempo.

La curva de un solo paso observada en la figura 4-3A es clásica de la cinética de inactivación observada con muchos antimicrobianos. El hecho de que sea una línea recta desde el tiempo cero (dosis cero) en vez de exhibir una saliente inicial significa que es suficiente un solo paso del agente inactivante para matar a la célula; es decir, debe dañarse un solo blanco para inactivar toda la célula. Dicho blanco podría ser el cromosoma de una bacteria mononu-

cleada o la membrana celular, y no podría ser una enzima u otro constituyente celular presente en múltiples copias.

Una célula que contiene varias copias del blanco por inactivar exhibe una curva de múltiples pasos como la que se muestra en la figura 4-3B. La extrapolación de la porción de la línea recta de la curva a la ordenada permite el cálculo del número de blancos (p. ej., 4 en la figura 4-3B).

Esterilización

En la práctica se conoce como esterilización al proceso de destruir a todos los microorganismos de una preparación. Sin embargo, de acuerdo con las consideraciones anteriores, se observa que no existe condición alguna que lo garantice. Por ejemplo, considérese la figura 4-3: a los 60 min, queda un microorganismo (10^0) por mL, a los 70, 10^{-1} , a los 80, 10^{-2} , etc. Por 10^{-2} queremos decir que en un volumen total de 100 mL sobreviviría un microorganismo. ¿Cuánto tiempo se necesita, entonces, para esterilizar un cultivo? Todo lo que se puede decir es que, después de un tiempo dado de tratamiento, la probabilidad de tener cualquier número de sobrevivientes por mililitro es la que da la curva en la figura 4-3. Después de 2 h, en el ejemplo anterior, la probabilidad es de 1×10^{-6} . Esto se consideraría un tiempo de esterilización adecuado o seguro en la mayor parte de los casos, pero un lote de 1 000 L podría contener todavía un microorganismo viable.

Nótese que tales cálculos dependen de que en la curva no haya cambios en la pendiente durante el periodo completo. Por desgracia, es muy común que la curva se incline hacia arriba después de cierto tiempo, como resultado de que la población es heterogénea respecto de la sensibilidad al agente inactivante. Las extrapolaciones son peligrosas y pueden llevar a errores como los que se presentaron en las primeras preparaciones de vacuna estéril contra la poliomielitis.

Efecto de la concentración del medicamento

Cuando se utilizan sustancias antimicrobianas (fármacos) para inactivar células microbianas, comúnmente se observa que la concentración del medicamento utilizado se correlaciona con el tiempo requerido para matar una fracción dada de la población, como se muestra en la siguiente expresión:

$$C^n t = K \quad (10)$$

donde C es la concentración del medicamento, t es el tiempo requerido para matar una fracción dada de las células, y n y K son constantes.

Esta expresión muestra que, por ejemplo, si $n = 5$ (como sucede con el fenol), al aumentar al doble la concentración del medicamento, se reduce 32 veces el tiempo requerido para alcanzar el mismo grado de inactivación. El que la efectividad de un medicamento varíe con la quinta potencia de la concentración sugiere que se requieren cinco moléculas de aquél para inactivar una célula, aunque no existen pruebas químicas directas para esta conclusión.

Para determinar el valor de n para cualquier medicamento se obtienen curvas de inactivación para cada una de las diversas concentraciones, y se determina el tiempo requerido en cada concentración para inactivar una fracción fija de la población. Por ejemplo, supóngase que la primera concentración utilizada sea C_1 y el tiempo requerido para inactivar 99% de las células sea t_1 . De manera similar, supóngase que C_2 y t_2 sean la segunda concentración y el tiempo requerido para inactivar 99% de las células. De la ecuación 10, véase que

$$C_1^n t_1 = C_2^n t_2 \quad (11)$$

Despejando n se obtiene:

$$n = \frac{\log t_2 - \log t_1}{\log C_1 - \log C_2} \quad (12)$$

Por tanto, n puede determinarse con la medición de la pendiente de la línea resultante cuando $\log t$ se representa en la gráfica en función de $\log C$ (figura 4-4). Si n se determina experimentalmente de esta manera, K puede determinarse por sustitución de los valores observados para C , t y n en la ecuación 10.

AGENTES ANTIMICROBIANOS

Definiciones

En general, los siguientes términos se usan para los agentes antimicrobianos y su uso.

A. Biocida

Término general que describe a un agente químico, generalmente de amplio espectro, que inactiva microorganismos (cuadro 4-3).

B. Bacteriostático

Término específico que se refiere a la propiedad mediante la cual un biocida puede inhibir la multiplicación bacteriana; ésta se reanuda después de la remoción del agente. (Los términos "fungistático" y "esporostático" se refieren a aquellos biocidas que inhiben el crecimiento de hongos y esporas, respectivamente).

C. Bactericida

Término específico que se refiere a la propiedad mediante la cual un biocida puede matar bacterias. La acción bactericida difiere de la bacteriostática sólo en que es irreversible: es decir, el microorganismo "muerto" no puede reproducirse más, aun cuando se retire del contacto con el agente. En algunos casos el agente causa lisis (disolución) de las células; en otros, las células permanecen intactas e inclusive pueden continuar metabólicamente activas. (Los términos "fungicida", "esporicida" y "virucida" se refieren a la propiedad mediante la cual los biocidas pueden matar hongos, esporas y virus, respectivamente.)

D. Esterilización

Proceso físico o químico que destruye o remueve completamente todo tipo de vida microbiana, incluyendo esporas.

E. Desinfectantes

Productos o biocidas utilizados para matar microorganismos en objetos o superficies. Los desinfectantes pueden ser esporostáticos, pero no necesariamente esporicidas.

F. Séptico

Caracterizado por la presencia de microorganismos patógenos en el tejido vivo.

G. Antiséptico

Un biocida o producto que destruye o inhibe el crecimiento de microorganismos dentro o en tejidos vivos.

H. Aséptico

Ausencia de microorganismos patógenos.

I. Conservación

Prevención de la multiplicación de microorganismos en productos formulados, incluyendo farmacéuticos y alimentos.

J. Antibióticos

Compuestos orgánicos naturales o sintéticos que inhiben o destruyen selectivamente bacterias, por lo general a concentraciones bajas.

Modos de acción

A. Daño al DNA

Algunos antimicrobianos actúan dañando al DNA, entre éstos se incluyen las radiaciones ionizantes, la luz ultravioleta y los compuestos químicos que reaccionan con este ácido. En la última categoría están los alquilantes y otros compuestos que reaccionan de manera covalente con las bases de purina y pirimidina.

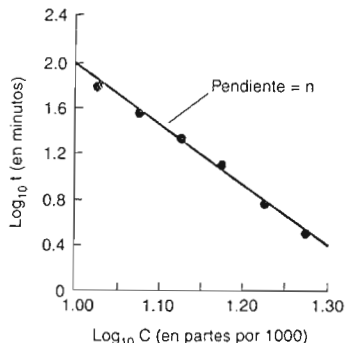
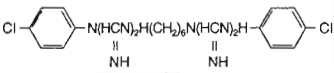
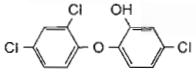
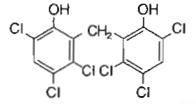


Figura 4-4. Interrelación entre la concentración de un fármaco y el tiempo requerido para matar una fracción dada de una población celular.

Cuadro 4-3. Algunos biocidas de uso común para antisepsia, desinfección, conservación y otros propósitos

Agente	Fórmula	Usos
Alcoholes		
Etanol	$\text{CH}_3\text{-CHOH}$	Antisepsia, desinfección, conservación
Isopropanol	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3\text{-CHOH} \end{array}$	
Aldehídos		
Glutaraldehído	$\begin{array}{c} \text{H} & \text{H} \\ & \\ \text{O}=\text{CCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}=\text{O} \end{array}$	Desinfección, esterilización, conservación
Formaldehído	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}=\text{O} \end{array}$	
Biguanidas		
Clorhexidina		Antisepsia, actividad antiplaquetaria, conservación, desinfección
Bisfenoles		
Triclosán		Antisepsia, actividad antiplaquetaria
Hexaclorofeno		Desodorante, conservación
Agentes liberadores de halógeno		
Compuestos con cloro	$\rightarrow \text{OCl}, \text{HOCl}, \text{Cl}_2$	Desinfección, antisepsia
Compuestos con yodo	$\rightarrow \text{I}_2$	
Derivados de metales pesados		
Compuestos con plata	Ag	Conservación, antisepsia
Compuestos con mercurio	Hg	Desinfección
Peroxígenos		
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2	Desinfección, esterilización
Ozono	O_3	
Ácido peracético	CH_3COOOH	
Fenoles y cresoles		
Fenol		Desinfección, conservación
Cresol		
Compuestos de amonio cuaternario		
	$\left[\begin{array}{c} \text{R}^1 & \text{R}^3 \\ & \text{N} \\ \text{R}^2 & \text{R}^4 \end{array} \right]^+ \text{X}^-$	Desinfección, antisepsia, conservación
Cetrimida	$\left[\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} & \text{CH}_3 \\ & \text{N} \\ \text{H}_3\text{C} & \text{C}_{12}\text{H}_{25+1} \end{array} \right]^+ \text{Br}^-$	
Cloruro de benzalconio	$\left[\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2 & \text{CH}_3 \\ & \text{N} \\ \text{H}_3\text{C} & \text{C}_{12}\text{H}_{25+1} \end{array} \right]^+ \text{Cl}^-$	

Cuadro 4-3. Algunos biocidas de uso común para antiseptia, desinfección, conservación y otros propósitos (continuación)

Agente	Fórmula	Usos
Fase de vapor		
Oxido de etileno	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H}_2\text{O}-\text{CH}_2 \end{array}$	Esterilización, desinfección
Formaldehído	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}=\text{O} \end{array}$	
Peróxido de hidrógeno	H_2O_2	

midina para formar condensados del DNA o enlaces cruzados entre sus cadenas. Las radiaciones dañan al DNA de varias maneras: por ejemplo, la luz ultravioleta induce el entrecruzamiento entre pirimidinas adyacentes en una u otra de las dos cadenas de polinucleótidos para formar dímeros pirimídicos; las radiaciones ionizantes producen roturas en las cadenas sencillas y en las dobles. Las lesiones al DNA inducidas por radiación y compuestos químicos destruyen a la célula, principalmente por interferir en la replicación del DNA. Véase en el capítulo 7 la descripción de los sistemas de reparación del DNA.

B. Desnaturalización de las proteínas

Las proteínas existen plegadas en un estado tridimensional, determinado por los enlaces disulfuro covalentes intramoleculares y por los enlaces no covalentes como los hidrógenos, los iónicos y los de hidrógeno. Este estado se denomina la estructura terciaria de la proteína, la cual se fragmenta con facilidad por diversos agentes físicos o químicos, que provocan que la proteína deje de funcionar. La fragmentación de la estructura terciaria de una proteína se denomina desnaturalización de la proteína.

C. Disrupción de la membrana o de la pared celular

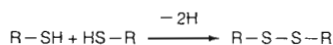
La membrana celular actúa como una barrera selectiva que deja pasar algunos solutos a través de ella y excluye a otros. Muchos compuestos se transportan activamente a través de la membrana y se concentran dentro de la célula. La membrana también es el sitio de enzimas relacionadas con la biosíntesis de los componentes de la envoltura celular. Las sustancias que se concentran en la superficie celular pueden alterar las propiedades físicas y químicas de la membrana e impedir sus funciones normales y, por consiguiente, matan o inhiben a la célula.

La pared celular actúa como una estructura de sujeción para proteger a la célula contra la lisis osmótica. Así, los agentes que destruyen (p. ej., la lisozima) o impiden la síntesis normal de la pared (p. ej., la penicilina) pueden traer consigo la lisis de la célula.

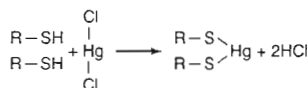
D. Eliminación de los grupos sulfhidrilo libres

Las proteínas enzimáticas que contienen cisteína tienen cadenas laterales que terminan en grupos sulfhidrilo. Además, las coenzimas como la coenzima A y el dihidrolipoato contienen grupos sulfhidrilo libres. Tales enzimas y coenzimas no pueden funcionar a menos que los grupos sulfhidrilo permanezcan libres y reducidos. De esta forma los agentes

oxidantes interfieren con el metabolismo al formar puentes disulfuro entre los grupos sulfhidrilo vecinos:



Muchos metales, como el ion mercurio, también interfieren por combinación con los sulfhidrilos:



En la célula existen muchas enzimas que contienen grupos sulfhidrilo: por consiguiente, los agentes oxidantes y los metales pesados ocasionan un daño considerable.

E. Antagonismo químico

Se conoce como antagonismo químico la interferencia de un agente químico con la reacción normal entre una enzima específica y su sustrato. El antagonista actúa por combinación con alguna parte de la holoenzima (ya sea con la apoenzima proteínica, con el activador mineral o con la coenzima), de modo que impide la unión del sustrato normal. (La palabra sustrato se usa aquí en el sentido más amplio, para incluir casos en los que el inhibidor se combina con la apoenzima, de modo que impide la unión de la coenzima a ella).

Un antagonista se combina con una enzima por su afinidad química respecto de un sitio esencial de ésta. Las enzimas efectúan su actividad catalítica en virtud de su afinidad por sus sustratos naturales; de aquí que un compuesto que estructuralmente se asemeja a un sustrato en sus aspectos esenciales, pueda tener también afinidad con la enzima. Si esta afinidad es lo suficientemente grande, el análogo desplaza al sustrato normal de la enzima e impide que tenga lugar la reacción adecuada.

Muchas holoenzimas contienen un ion mineral que actúa como un puente, ya sea entre la enzima y la coenzima o entre la enzima y el sustrato. Las sustancias químicas que se combinan fácilmente con estos minerales impiden la unión de la coenzima o del sustrato: por ejemplo, el monóxido de carbono y el cianuro se combinan con el átomo de hierro de las enzimas que contienen hem e impiden su función en la respiración.

te de
duct
biosi
mas
fosfo
análo
noáci
nos c
metál
porac
metab
ciona
la pro
último

Reve

En la
bacter
grarse

A. E
Cuan
riostá
te en l
fresco

B. R

Cuan
sible
una gr
denom
concer
inhibi
suele
much

C. In

Los ag
sustan
dir su
ion me
compu

D. Pr

La lisi
dio par
se requ
tales co
na perm
formas

Resis

La cap
antibac
mecani
criben

Los antagonistas químicos pueden ser convenientemente descritos en dos grupos: antagonistas de los procesos productores de energía y antagonistas de los procesos biosintéticos. Los primeros incluyen venenos de las enzimas respiratorias (monóxido de carbono, cianuro) y de la fosforilación oxidativa (dinitrofenol); los segundos incluyen análogos de los precursores que forman las proteínas (aminoácidos) y de los ácidos nucleicos (nucleótidos). En algunos casos el análogo simplemente evita la incorporación del metabolito normal (p. ej., el 5-metiltryptófano evita la incorporación del tryptófano a la proteína) y en otros reemplaza al metabolito normal en la macromolécula para impedir su funcionamiento. La incorporación de la *p*-fluorofenilalanina a la proteína, en lugar de la fenilalanina, es un ejemplo del último tipo de antagonismo.

Reversión de la acción antibacteriana

En la sección acerca de definiciones se aclara que la acción bacteriostática es, por definición, reversible. Esto puede lograrse de varias maneras.

A. Eliminación del agente

Cuando las células inhibidas por la presencia de un bacteriostático se separan por centrifugación, se lavan totalmente en la centrifuga y se resuspenden en un medio de cultivo fresco, reanudan su multiplicación normal.

B. Reversibilidad por sustrato

Cuando un antagonista químico del tipo análogo se une reversiblemente con la enzima, es posible desplazarlo al agregar una gran concentración del sustrato normal; tales casos se denominan de inhibición competitiva. La proporción entre la concentración del inhibidor y la del sustrato que revierte la inhibición recibe el nombre de índice antimicrobiano, el cual suele ser muy grande (100 a 10 000) e indica una afinidad mucho mayor de la enzima por su sustrato normal.

C. Inactivación del agente

Los agentes a menudo se inactivan por la adición de una sustancia al medio, la cual se combina con ellos para impedir su unión con constituyentes celulares. Por ejemplo, el ion mercurio puede inactivarse por la adición al medio de compuestos sulfhidrilo como el ácido tioglucólico.

D. Protección contra la lisis

La lisis osmótica se puede impedir al hacer isotónico al medio para los protoplastos bacterianos desnudos, para lo cual se requieren concentraciones de 10 a 20% de sacarosa: en tales condiciones los protoplastos inducidos por la penicilina permanecen viables y continúan su crecimiento como formas L.

Resistencia a los antibacterianos

La capacidad de las bacterias para hacerse resistentes a los antibacterianos es un factor importante para su control. Los mecanismos por los cuales se adquiere la resistencia se describen en los capítulos 7 y 10.

Agentes físicos

A. Calor

La aplicación de calor es el método más simple para esterilizar material, siempre y cuando éste sea resistente al daño por calor. Una temperatura de 100 °C mata a todas las formas bacterianas en 2 o 3 min. excepto a las esporas, las cuales requieren una temperatura de 121 °C durante 15 min. Por lo general se usa el vapor, porque las bacterias se mueren con más rapidez cuando se encuentran húmedas y porque el vapor proporciona un medio para distribuir el calor de manera uniforme en todas las partes del esterilizador. El vapor debe conservarse a una presión de 1 000 g/cm² sobre la presión atmosférica para obtener una temperatura de 121 °C; con este propósito se utilizan las autoclaves o las ollas de presión. Para esterilizar materiales que deben permanecer secos se dispone de hornos eléctricos por los que circula aire caliente; en vista de que el calor es menos eficaz en materiales secos, se acostumbra aplicar una temperatura de 160 a 170 °C durante 1 h o más.

En las condiciones descritas anteriormente (es decir, temperaturas excesivas aplicadas por largos periodos), el calor actúa para desnaturizar a las proteínas y a los ácidos nucleicos de la célula y fragmentar las membranas celulares.

B. Radiación

La luz ultravioleta y las radiaciones ionizantes tienen varias aplicaciones como esterilizantes. Sus modos de acción se describen antes.

Agentes químicos

La estructura química y los usos de biocidas se muestran en el cuadro 4-3.

A. Alcoholes

El alcohol etilo, el alcohol isopropilo y el *n*-propanol muestran una actividad antimicrobiana rápida de amplio espectro contra bacterias, virus y hongos vegetativos, pero no son esporicidas. Su actividad es óptima cuando se diluyen con agua a una concentración de 60 a 90%.

B. Aldehídos

El glutaraldehído se utiliza para la desinfección y la esterilización a temperatura baja de aparatos como endoscopios y equipo quirúrgico. En general se utiliza como una solución al 2% para así obtener actividad esporicida. El formaldehído es bactericida, esporicida y virucida.

C. Biguanidas

La clorhexidina se utiliza ampliamente para el lavado de manos y en productos bucales: es desinfectante y conservador. Por lo general las micobacterias son muy resistentes.

D. Bisfenoles

Los bisfenoles se utilizan mucho en jabones antisépticos y enjuagues de manos. En general, muestran un espectro amplio de acción, aunque ejercen muy poca actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* y mohos. El triclosán y el hexaclorofeno son bactericidas y esporostáticos.

E. Liberadores de halógeno

Los tipos más importantes de liberadores de cloro son hipoclorito de sodio, dióxido de cloro y dicloroisocianurato de sodio, los cuales son oxidantes que destruyen la actividad celular de las proteínas. El ácido hipocloroso es el compuesto activo responsable del efecto bactericida y virucida de estos compuestos; a concentraciones más altas funcionan como esporicidas. El yodo es un bactericida rápido, fungicida, tuberculocida, virucida y esporicida. Los yodóforos (p. ej., yodopovidona) son complejos de yodo y un agente o portador solvente que actúa como un reservorio del I_2 activo.

F. Derivados de metales pesados

La sulfadiazina de plata, una combinación de dos antibacterianos. Ag^+ y sulfadiazina, tiene un espectro amplio de actividad. La unión a componentes celulares como DNA puede ser la responsable de sus propiedades inhibitorias.

G. Peroxígenos

El peróxido de hidrógeno tiene una actividad de amplio espectro contra virus, bacterias, levaduras y esporas bacterianas. La actividad esporicida requiere concentraciones más altas (10 a 30%) de H_2O_2 y tiempos de contacto más prolongados.

H. Fenoles

El fenol y muchos compuestos fenólicos tienen propiedades antisépticas, desinfectantes o conservadoras.

I. Compuestos de amonio cuaternario (QAC)

Estos compuestos tienen dos regiones en sus estructuras moleculares, un grupo repelente al agua (hidrofóbico) y otro atractivo (hidrofílico). Los detergentes catiónicos (como ejemplo están los compuestos de amonio cuaternario), son antisépticos y desinfectantes muy útiles: los QAC se han empleado para una gran variedad de propósitos clínicos (p. ej., desinfección preoperatoria de piel intacta), así como para la limpieza de superficies duras. Estos compuestos son esporostáticos; inhiben el brote de esporas, mas no el proceso real de germinación; también son micobacteriostáticos y ejercen efecto sobre virus con envoltura lipídica, pero no sobre los que carecen de ésta.

J. Esterilizantes de fase de vapor

Los aparatos médicos y artefactos quirúrgicos sensibles al calor se pueden esterilizar de manera efectiva mediante sistemas de fase de vapor, utilizando óxido de etileno, formaldehído, peróxido de hidrógeno o ácido peracético.

Quimioterapéuticos

El modo de acción y la naturaleza de estas sustancias se describen en el capítulo 10.

Preguntas de revisión

- Una mujer de 23 años de edad tiene 10 *Escherichia coli* inoculadas al interior de su vejiga durante las relaciones sexuales. Estas *E. coli* tienen un tiempo de generación de 20 min. Después de un lapso de 20 min, la *E. coli* pasa a la fase de crecimiento logarítmico. Después de 3 h de crecimiento logarítmico, el número total de células es:
 - 2 560
 - 5 012
 - 90
 - 1 028
 - 1 000 000
- Una mujer de 73 años de edad es admitida en el hospital para tratamiento intravenoso de un absceso causado por *Staphylococcus aureus*. Después de su tratamiento y alta del hospital, es necesario desinfectar el cuarto del hospital. Un millar de células con *S. aureus* se exponen a un desinfectante. Después de 10 min, el 90% de las células mueren. ¿Cuántas células permanecen vivas después de 20 min?
 - 500
 - 100
 - 10
 - 1
 - 0
- La acción de cuál de los siguientes agentes o procesos sobre bacterias puede ser revertida:
 - Un desinfectante
 - Un agente bactericida
 - Un agente bacteriostático
 - Temperatura de 121 °C en autoclave durante 15 min
 - Calor seco de 160 a 170 °C durante 1 h
- La tasa de crecimiento de las bacterias durante la fase estacionaria máxima de crecimiento es:
 - Zero
 - Creciente
 - Constante
 - Decreciente
 - Negativa

Respuestas: 1 = A; 2 = C; 3 = C; 4 = C; 5 = A.

REFERENCIAS

Libros

- Block SS (editor): *Disinfection, Sterilization, and Preservation*. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2001.
- Gerhardt P et al. (editors): *Manual of Methods for General Bacteriology*. American Society for Microbiology, 1981.
- Kjelleberg S (editor): *Starvation in Bacteria*. Plenum Press, 1993.
- Olmstead RN (editor): *APIC Infection Control and Applied Epidemiology: Principles and Practices*. Mosby Year Book, 1996.
- Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GAJ (editors): *Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*, 3rd ed. Blackwell Scientific Publications, 1999.

Artículos y revistas

- Donohue WD: The cell cycle of *Escherichia coli*. *Annu Rev Microbiol* 1993;47:199.
- Kjelleberg S et al.: The transient phase between growth and nongrowth of heterotrophic bacteria. *Annu Rev Microbiol* 1987;41:25.
- Kolter R, Siegel DA, Tormo A: The stationary phase of the bacterial life cycle. *J Bacteriol* 1992;174:345.
- McDonnell G, Russell AD: Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:147.
- Sancar A, Sancar GB: DNA repair enzymes. *Annu Rev Biochem* 1988;57:29.
- Siegel DA, Kolter R: Life after log. *J Bacteriol* 1992;174: 345.

Cultivo de microorganismos

Se llama cultivo al proceso de multiplicar microorganismos mediante las condiciones ambientales adecuadas. Los microorganismos en crecimiento realizan copias de sí mismos y requieren los elementos que se encuentran en su composición química: los nutrientes deben proporcionar estos elementos de manera metabólicamente accesible. Además, dichos microorganismos requieren energía metabólica para sintetizar macromoléculas y conservar los gradientes químicos esenciales a través de sus membranas. Los factores que se deben controlar durante el crecimiento son nutrientes, pH, temperatura, aireación, concentración de sales y potencial iónico del medio.

REQUERIMIENTOS PARA EL CRECIMIENTO

La mayor parte del peso seco de los microorganismos consiste en materia orgánica que contiene carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre. Además, se requieren iones inorgánicos como potasio, sodio, hierro, magnesio, calcio y cloro para facilitar la catálisis enzimática y conservar los gradientes químicos a través de la membrana celular.

En su mayor parte, la materia orgánica se encuentra como macromoléculas formadas por **enlaces anhídrido** entre los elementos estructurales. La síntesis de estos enlaces requiere energía química proporcionada por los dos enlaces fosfodiéstericos del ATP (trifosfato de adenosina; capítulo 6). La energía adicional necesaria para conservar la composición citoplásmica relativamente constante durante el crecimiento, en los diversos ambientes químicos extracelulares, se deriva de la **fuerza motriz protónica**, potencial de energía obtenida por el paso de un protón a través de una membrana. En las eucariontes esta membrana puede ser parte de la mitocondria o del cloroplasto. En las procariontes es la membrana citoplásmica de la célula.

La fuerza motriz protónica es un gradiente electroquímico que tiene dos componentes: una diferencia en el pH (concentración de iones hidrógeno) y una diferencia de carga iónica. La carga en el exterior de la membrana bacteriana es más positiva que en el interior, y esta diferencia de carga contribuye a liberar energía cuando un protón entra en el citoplasma desde el exterior. En el capítulo 6 se discuten los

procesos metabólicos que generan la fuerza motriz protónica. La energía libre puede usarse para mover a la célula, para conservar los gradientes iónicos o moleculares a través de la membrana, para sintetizar enlaces del tipo anhídrido en el ATP, o para producir una combinación de estos fenómenos. Como alternativa, las células que cuentan con una fuente de ATP pueden usar su energía de enlaces anhídrido para crear una fuerza motriz protónica que, a su vez, puede utilizarse para mover a la célula y conservar sus gradientes químicos.

Para poder crecer un microorganismo se requieren todos los elementos contenidos en su materia orgánica y el complemento total de iones necesarios para la producción de energía y la catálisis. Además, debe haber una fuente de energía que establezca la fuerza motriz protónica y que permita la síntesis macromolecular. Los microorganismos varían ampliamente en cuanto a sus demandas nutricionales y sus fuentes de energía metabólica.

FUENTES DE ENERGÍA METABÓLICA

Los tres mecanismos principales para generar energía metabólica son fermentación, respiración y fotosíntesis. Para poder crecer, el microorganismo debe utilizar por lo menos uno de estos mecanismos.

Fermentación

La formación de ATP durante la fermentación no está acoplada a la transferencia de electrones. La fermentación se caracteriza por la **fosforilación del sustrato**, proceso enzimático en el cual un intermediario metabólico fosforilado dona un enlace pirofosfato directamente al ADP (difosfato de adenosina). Los intermediarios fosforilados se forman por redistribución metabólica de un sustrato fermentable como glucosa, lactosa o arginina. Como las fermentaciones no se acompañan de ningún cambio en el estado global de óxido-reducción del sustrato fermentable, la composición elemental de los productos de la fermentación debe ser idéntica a la de los sustratos. Por ejemplo, con la fermentación de una molécula de glucosa ($C_6H_{12}O_6$) por la vía de Embden-Meyerhof (capítulo 6) se obtiene una ganancia neta de

dos enlaces pirofosfato en el ATP y se producen dos moléculas de ácido láctico ($C_3H_6O_3$).

Respiración

La respiración es análoga al acoplamiento de un proceso dependiente de energía a la descarga de una batería. La reducción química de un oxidante (aceptor de electrones) a lo largo de una serie específica de portadores de electrones en la membrana establece la fuerza motriz protónica al cruzar la membrana bacteriana. El agente reductor (donador de electrones) puede ser orgánico o inorgánico; por ejemplo, el ácido láctico sirve como reductor para algunos microorganismos, y el gas hidrógeno para otros. El oxígeno gaseoso (O_2) a menudo se usa como oxidante; pero algunos microorganismos utilizan oxidantes alternos como dióxido de carbono (CO_2), sulfato (SO_4^{2-}) y nitrato (NO_3^-).

Fotosíntesis

La fotosíntesis es similar a la respiración en que la reducción de un oxidante por medio de una serie de portadores de electrones es lo que establece la fuerza motriz protónica. La diferencia entre ambos procesos consiste en que, en la fotosíntesis, tanto el reductor como el oxidante se crean fotoquímicamente por medio de la energía luminosa absorbida por pigmentos en la membrana; en consecuencia, la fotosíntesis puede proseguir sólo en tanto haya una fuente de energía lumínica. Las plantas y algunas bacterias son capaces de dedicar una cantidad importante de la energía lumínica para hacer del agua un reductor del dióxido de carbono. En este proceso se libera oxígeno y se produce materia orgánica. La respiración, que produce energía a través de la oxidación de la materia orgánica mediante un aceptor de electrones como el oxígeno puede proporcionar energía a los microorganismos fotosintéticos sin luz.

NUTRICIÓN

Los nutrientes en el medio de cultivo deben contener todos los elementos necesarios para la síntesis biológica de nuevos microorganismos. En la descripción subsecuente se clasifican según los elementos que aportan.

Fuentes de carbono

Como se mencionó antes, las plantas y algunas bacterias pueden usar energía fotosintética para reducir al dióxido de carbono a expensas del agua. Estos microorganismos pertenecen al grupo de los **autótrofos**, seres vivos que no requieren nutrientes orgánicos para crecer. Otros autótrofos son los **quimioautótrofos**, microorganismos que usan sustratos inorgánicos, como el hidrógeno o el tiosulfato en calidad de reductor, y al dióxido de carbono como fuente de carbono.

Los **heterótrofos** requieren carbono orgánico para crecer y éste debe encontrarse en una forma en que pueda asi-

milarse. Por ejemplo, el naftaleno proporciona todo el carbono y la energía requeridos en el crecimiento respiratorio heterótrofo, pero son muy pocos los microorganismos que poseen la vía metabólica necesaria para asimilar esta sustancia. Por otra parte, la glucosa puede apoyar el crecimiento fermentativo o respiratorio de muchos microorganismos. Es importante que se proporcionen los sustratos del crecimiento en las concentraciones adecuadas para la cepa microbiana en desarrollo; las concentraciones que apoyan al crecimiento de un microorganismo pueden inhibir el de otro.

Se requiere dióxido de carbono para diversas reacciones biosintéticas. Muchos microorganismos respiratorios producen dióxido de carbono en cantidad más que suficiente para satisfacer sus requerimientos, pero otros necesitan una fuente del mismo en su medio de crecimiento.

Fuentes de nitrógeno

El nitrógeno es un componente importante de las proteínas y de los ácidos nucleicos; constituye casi 10% del peso seco de la célula bacteriana típica. Puede suministrarse en diversas formas y los microorganismos varían en su capacidad para asimilarlo (cuadro 5-1). El producto final de todas las vías de asimilación del nitrógeno es la forma más reducida del mismo, el ion amonio (NH_4^+).

Muchos microorganismos pueden asimilar el nitrato (NO_3^-) y el nítrito (NO_2^-) de manera reductiva al convertirlos en amoníaco (NH_3). Estas vías de **asimilación** difieren de las vías utilizadas para la **desasimilación** del nitrato y del nítrito. Utilizan vías desasimilatorias los microorganismos que emplean a los iones como aceptores terminales de electrones en la respiración; este proceso se llama **desnitrificación** y su producto es el gas nitrógeno (N_2), el cual es liberado a la atmósfera.

La capacidad para asimilar N_2 de manera reductiva por medio del NH_3 , denominada **fijación del nitrógeno**, es una propiedad única de los procariontes y son relativamente pocas las bacterias con esta capacidad metabólica. El proceso requiere gran cantidad de energía metabólica y se inactiva con facilidad por acción del oxígeno. La capacidad para fijar nitrógeno se encuentra en bacterias ampliamente divergentes, las cuales han desarrollado estrategias bioquímicas muy distintas para proteger a sus enzimas fijadoras de nitrógeno del efecto del oxígeno.

La mayor parte de los microorganismos pueden recurrir al NH_4^+ como fuente única de nitrógeno, y muchos de ellos pueden producir este ion a partir de las aminas (R-

Cuadro 5-1. Fuentes de nitrógeno en nutrición microbiana

Compuesto	Valencia del N
NO_3^-	+5
NO_2^-	+3
N_2	0
NH_4^+	-3
$R-NH_2^*$	-3

* R = radical orgánico.

NH_2) o de los aminoácidos ($\text{RCHNH}_2\text{COOH}$). La producción de amoníaco a partir de la desaminación de los aminoácidos se llama amonificación. El amoníaco se introduce en la materia orgánica mediante vías bioquímicas en las que participan el glutamato y la glutamina. Estas vías se comentan en el capítulo 6.

Fuentes de azufre

Al igual que el nitrógeno, el azufre es un componente de muchas sustancias celulares orgánicas. Constituye parte de la estructura de diversas coenzimas y se encuentra en las cadenas laterales de cisteinilo y metionilo de las proteínas. El azufre en su forma elemental no puede ser utilizado por las plantas o los animales. Sin embargo, algunas bacterias autótrofas pueden oxidarlo a sulfato (SO_4^{2-}). La mayor parte de los microorganismos puede utilizar el sulfato como fuente de azufre mediante la reducción del primero al nivel del ácido sulfhídrico (H_2S). Algunos microorganismos pueden asimilar H_2S directamente del medio de cultivo, pero este compuesto puede ser tóxico para muchos de ellos.

Fuentes de fósforo

Se requiere fosfato (PO_4^{3-}) como componente del ATP, de los ácidos nucleicos y de las coenzimas como NAD, NADP y flavinas. Además, se fosforilan muchos metabolitos, lípidos (fosfolípidos, lípido A), componentes de la pared celular (ácido teicoico), algunos polisacáridos capsulares y algunas proteínas. El fosfato se asimila siempre como fosfato inorgánico libre (Pi).

Fuentes de minerales

Se requieren numerosos minerales para la función enzimática. Los iones magnesio (Mg^{2+}) y ferroso (Fe^{2+}) se encuentran también en los derivados de las porfirinas: el magnesio en la molécula de clorofila y el hierro como parte de las coenzimas de los citocromos y de las peroxidases. Tanto el Mg^{2+} como el K^+ son esenciales para la función y la integridad de los ribosomas. Se requiere Ca^{2+} como constituyente de las paredes celulares de las bacterias grampositivas, aunque es innecesario en las bacterias gramnegativas. Muchos microorganismos marinos requieren Na^+ para crecer. Al formular un medio para el cultivo de la mayor parte de los microorganismos es necesario brindarles fuentes de potasio, calcio, magnesio y hierro, por lo general en forma de iones (K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} y Fe^{2+}). Se requieren también otros minerales (p. ej., Mn^{2+} , Mo^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+}); éstos se encuentran a menudo en el agua ordinaria del grifo o como contaminantes de otros ingredientes del medio de cultivo.

La captación de hierro, que forma hidróxidos insolubles a pH neutro, se facilita en muchas bacterias y hongos gracias a su producción de sideróforos, compuestos que producen la quelación del hierro y fomentan su transporte como complejo soluble. Entre ellos se encuentran los hidroxamatos ($-\text{CONH}_2\text{OH}$) llamados sideraminas, y los derivados del catecol (p. ej., 2,3-dihidroxibenzoilserina).

Los sideróforos determinados por los plásmidos desempeñan una función de primera importancia para la invasividad de algunas bacterias patógenas (capítulo 7).

Factores del crecimiento

Se llama factor del crecimiento a un compuesto orgánico que debe tener una célula para poder crecer, pero que es incapaz de sintetizar. Muchos microorganismos, cuando reciben todos los nutrientes señalados, pueden sintetizar todos los elementos integrales de las macromoléculas (figura 5-1): aminoácidos, purinas, pirimidinas y pentosas (precursores metabólicos de los ácidos nucleicos), carbohidratos adicionales (precursores de los polisacáridos), ácidos grasos y compuestos isoprenoides. Además, los microorganismos de vida libre deben poder sintetizar las vitaminas complejas que sirven como precursoras de las coenzimas.

Cada uno de estos compuestos esenciales se sintetiza mediante una secuencia distinta de reacciones enzimáticas; cada enzima se produce bajo la regulación de un gen específico. Cuando un microorganismo experimenta una mutación genética que ocasiona la incapacidad de una de estas enzimas para funcionar, la cadena se rompe y ya no se produce más el producto terminal. Por tanto, el microorganismo debe obtener el compuesto del ambiente, pues tal compuesto se ha convertido en un factor del crecimiento para él. Este tipo de mutación se puede inducir con facilidad en el laboratorio.

Las diferentes especies microbianas varían ampliamente en sus requerimientos de factores de crecimiento. Los compuestos involucrados se encuentran en todos los microorganismos y son esenciales para ellos; las diferencias en los requerimientos reflejan las diversidades en sus capacidades sintéticas. Algunas especies no necesitan factores del crecimiento, en tanto que otras, como algunos de los lactobacilos, han perdido durante la evolución su capacidad de sintetizar hasta 30 a 40 compuestos esenciales y, en consecuencia, los requieren en el medio de cultivo.

FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN AL CRECIMIENTO

Un medio de cultivo adecuado debe contener todos los nutrientes requeridos por el microorganismo que va a ser cultivado y controlarse minuciosamente factores como el pH, temperatura y aireación. Se utiliza un medio líquido, el cual se puede solidificar para fines específicos al agregar agar o gel de sílice. El agar, un polisacárido extraído de un alga marina y es particularmente adecuado para el cultivo microbiano porque resiste la acción microbiana y se disuelve a 100 °C, pero no forma gel hasta que se enfría por debajo de 45 °C; las células pueden ser suspendidas en el medio a 45 °C y después enfriarlo con rapidez hasta obtener un gel sin dañarlas.

Nutrientes

En las páginas anteriores se describe la función de cada tipo de nutriente y se presenta una lista de las sustancias apro-

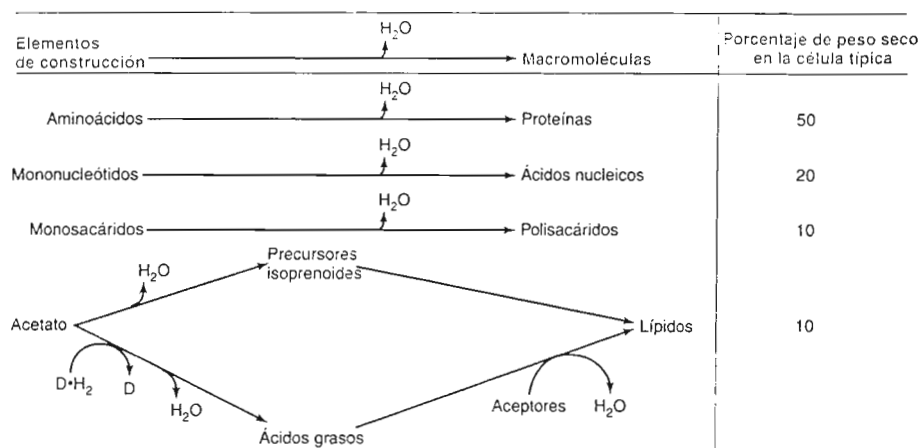


Figura 5-1. Síntesis macromolecular. La polimerización de los elementos constitutivos en macromoléculas se logra principalmente por introducción de enlaces de anhidrido. La formación de ácidos grasos a partir del acetato requiere diversas etapas de reducción bioquímica mediante donadores orgánicos de hidrógeno ($D+H_2$).

piadas. En general, debe proporcionarse lo siguiente (las cantidades son aproximadas): 1) aceptores y donadores de hidrógeno, 2 g/L; 2) fuente de carbono, 1 g/L; 3) fuente de nitrógeno, 1 g/L; 4) minerales: azufre y fósforo, 50 mg/L de cada uno; oligoelementos, de 0.1–1 mg/L de cada uno; 5) factores de crecimiento: aminoácidos, purinas y pirimidinas aproximadamente 50 mg/L de cada uno; vitaminas, de 0.1–1 mg/L de cada una.

Por lo general, para efectuar estudios acerca del metabolismo microbiano es necesario preparar un medio completamente sintético del que se conozcan las características y la concentración de cada ingrediente. De otra manera, es mucho más barato y simple el uso de materiales naturales como el extracto de levaduras, hidrolizados de proteínas o sustancias similares. La mayor parte de los microbios de vida libre crecen bien en extractos de levaduras, mientras las formas parásitas pueden requerir sustancias especiales presentes sólo en la sangre o en extractos de tejidos animales. Sin embargo, existen microorganismos parásitos (p. ej., *Trypanosoma pallidum*) que no pueden crecer *in vitro*, o que crecen dentro de células eucariontes (p. ej., *Chlamydia trachomatis*).

Para muchos microorganismos un solo compuesto (como algún aminoácido) puede servir como fuente de energía, carbono y nitrógeno; otros requieren un compuesto diferente para cada uno de ellos. Si los materiales naturales para los medios no sintéticos son deficientes en cualesquiera nutrientes, éstos deben agregarse.

Concentración de iones hidrógeno (pH)

La mayor parte de los microorganismos tiene un intervalo muy estrecho de pH. El pH óptimo para cada especie debe determinarse empíricamente. Casi todos los microorganismos (neutrofílicos) crecen mejor a un pH de 6.0 a 8.0, aun-

que algunos (acidófilos) tienen un pH óptimo tan bajo como 3.0 y otros (alcalófilos) tan alto como 10.5.

Los microorganismos regulan su pH interno a pesar de los amplios límites de valores del pH externo. Los acidófilos conservan su pH interno de 6.5 aproximadamente sobre unos límites externos de 1.0 a 5.0; los neutrofílicos conservan un pH interno de alrededor de 7.5 sobre un intervalo externo de 5.5 a 8.5; y los alcalófilos conservan un pH interno aproximado de 9.5 con límites externos de 9.0 a 11.0. El pH interno se regula por un conjunto de sistemas de transporte de protones en la membrana citoplásmica, los cuales incluyen una bomba primaria de protones impulsada por el ATP y un intercambiador de Na^+/H^+ . Se ha propuesto que el sistema de intercambio de los iones K^+/H^+ también contribuye a la regulación del pH interno en los neutrofílicos.

Temperatura

Diferentes especies microbianas varían ampliamente respecto de las fluctuaciones de la temperatura óptima para su desarrollo: las formas psicrófilas crecen mejor a temperaturas bajas (15 a 20 °C); las mesófilas lo hacen mejor de 30 a 37 °C y la mayor parte de los termófilos crecen mejor de 50 a 60 °C. Casi todos los microorganismos son mesófilos; 30 °C es la temperatura óptima para muchas de las formas de vida libre y la temperatura del huésped es óptima para los simbioses de los animales de sangre caliente.

El límite superior de temperatura tolerada por cualquier especie se correlaciona bien con la estabilidad térmica general de las proteínas de dicha especie, según mediciones hechas en extractos celulares. Los microorganismos comparten con los vegetales y los animales la **respuesta al choque por calor**, una síntesis transitoria de un conjunto de "proteínas de choque por calor" cuando se exponen a una elevación súbita

en la temperatura, por arriba de la óptima para el crecimiento. Al parecer, estas proteínas son extraordinariamente resistentes al calor y estabilizan a las proteínas termosensibles de las células.

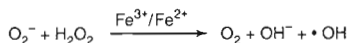
La correlación entre la velocidad de crecimiento y la temperatura para cualquier microorganismo se observa en una gráfica típica de Arrhenius (figura 5-2), que demuestra que el logaritmo de la velocidad de cualquier reacción química ($\log k$) es una función lineal de la recíproca de la temperatura ($1/T$); como el crecimiento de las células es el resultado de un conjunto de reacciones químicas, es de esperarse la presentación de esta correlación. La figura 5-2 indica que éste es el caso en los límites normales de temperatura para una especie dada: el $\log k$ decrece linealmente con $1/T$. Sin embargo, por arriba y abajo de los límites normales, el $\log k$ decrece con rapidez, por lo cual pueden definirse los valores máximos de temperatura.

Más allá de su efecto en la velocidad de crecimiento, las temperaturas extremas matan a los microorganismos. El calor extremo se utiliza para esterilizar las preparaciones (capítulo 4); el frío extremo también destruye las células microbianas, aunque no puede utilizarse con demasiada seguridad para la esterilización. Las bacterias también exhiben un fenómeno denominado choque por frío, es decir, la muerte de las células por un enfriamiento rápido, en oposición a uno lento. Por ejemplo, el enfriamiento rápido de la *Escherichia coli* desde 37 a 5 °C puede matar 90% de las células. Ciertos compuestos protegen a las células del choque por congelación o frío: el glicerol y el dimetilsulfóxido son los más usados.

Aireación

La función del oxígeno como aceptor de hidrógeno se describe en el capítulo 6. Muchos microorganismos son aerobios obligados y requieren específicamente del oxígeno como aceptor de hidrógeno, otros son facultativos y pueden vivir de manera aerobia o anaerobia; por último, otros más son anaerobios obligados, y requieren una sustancia diferente al oxígeno como aceptor de hidrógeno y son sensibles a la inhibición por el primero.

Los subproductos naturales del metabolismo aerobio son los compuestos reactivos peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el superóxido (O_2^-). En presencia de hierro, estos dos compuestos pueden generar radicales hidroxilo ($\bullet OH$), los cuales pueden dañar cualquier macromolécula biológica:



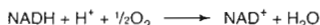
Muchos aerobios y anaerobios aerotolerantes se protegen de estos productos por la presencia de la superóxido dismutasa, una enzima que cataliza la reacción:



y por la presencia de la catalasa, una enzima que cataliza la reacción:



Algunos microorganismos fermentadores (p. ej., *Lactobacillus plantarum*) son aerotolerantes, pero no contienen catalasa o superóxido dismutasa. No se reduce el oxígeno y, en consecuencia, no se producen H_2O_2 y O_2^- . Todos los anaerobios estrictos carecen de superóxido dismutasa y catalasa. Algunos organismos anaerobios (p. ej., *Peptococcus anaerobius*) tienen una gran tolerancia al oxígeno como resultado de su capacidad para producir grandes cantidades de una enzima (NADH oxidasa) que reduce el oxígeno a agua de acuerdo con la reacción:



Gran parte de la toxicidad del peróxido de hidrógeno se debe al daño que causa al DNA. Las mutantes con deficiencias para reparar su DNA son sumamente susceptibles al peróxido de hidrógeno. Se ha demostrado que el producto del gen *recA*, que interviene en la recombinación genética y en la reparación del DNA, es más importante que la catalasa o la superóxido dismutasa en la protección de las células de *Escherichia coli* contra la toxicidad del peróxido de hidrógeno.

El aporte de aire a los cultivos de microorganismos aerobios es un problema técnico importante. Generalmente, los recipientes se agitan mecánicamente para introducir oxígeno en el medio, o bien, el aire se forza a presión a través del mismo. La difusión del oxígeno se vuelve el factor limitante para el crecimiento de las bacterias aerobias; cuando se alcanza una concentración de 4×10^9 células/mL.

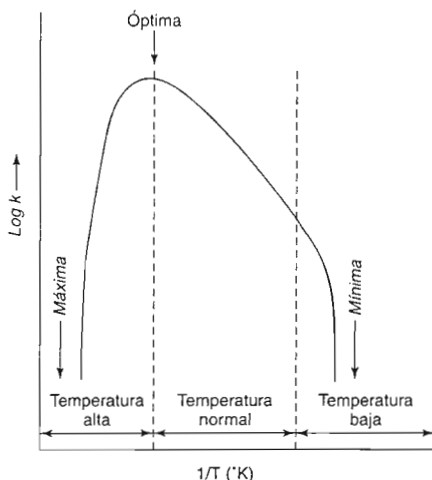


Figura 5-2. Forma general de la gráfica de Arrhenius del crecimiento bacteriano. (Según Ingraham JL, Maaløe O, Neidhardt FC: *Growth of the Bacterial Cell*. Sinauer Associates, 1983.)

la tasa de difusión de oxígeno hacia las células limita de manera brusca la velocidad de crecimiento posterior.

Por otra parte, los anaerobios obligados presentan el problema de la exclusión del oxígeno. Para este propósito se cuenta con muchos métodos: se pueden agregar a los medios de cultivo líquidos, agentes reductores como el tioglicolato de sodio; los tubos de agar se pueden sellar con una capa de vaselina y parafina; el cultivo puede colocarse en un recipiente del cual se elimina el oxígeno por evacuación o por medios químicos; o bien los microorganismos se pueden manipular con guantes dentro de una cámara anaerobia cerrada herméticamente.

Fuerza iónica y presión osmótica

En menor grado, puede ser necesario controlar factores como la presión osmótica y la concentración salina. Para la mayor parte de los microorganismos son satisfactorias las propiedades de los medios ordinarios, pero dichos factores deben tomarse en cuenta; por ejemplo, para las formas marinas y los microorganismos adaptados a crecer en soluciones concentradas de azúcar. Los microorganismos que requieren altas concentraciones salinas se denominan **halófilos**, y los que necesitan presiones osmóticas altas, **osmófilos**.

La mayor parte de las bacterias pueden tolerar una amplia variedad de presiones osmóticas y de fuerzas iónicas externas debido a su capacidad de regular la osmolalidad interna y la concentración iónica. La osmolalidad está regulada por el transporte activo de iones K^+ al interior de la célula; la fuerza iónica interna se conserva constante por una excreción compensadora de putrescina, una poliamina orgánica cargada positivamente. Debido a que la putrescina porta varias cargas positivas por molécula, se produce un gran descenso en la fuerza iónica con un costo pequeño en la fuerza osmótica.

MÉTODOS DE CULTIVO

Se consideran dos problemas: la elección de un medio adecuado y el aislamiento de un microorganismo bacteriano en cultivo puro.

El medio

La técnica usada y el tipo de medio seleccionado dependen de la naturaleza de la investigación. En general, pueden presentarse tres situaciones: 1) puede ser necesario obtener un cultivo de células de una especie particular que se tiene a la mano; 2) puede requerirse determinar las cantidades y los tipos de microorganismos presentes en un material dado, o 3) aislar un tipo particular de microorganismo de un material natural.

A. Crecimiento celular de una especie dada

Puede ser muy difícil lograr que los microorganismos observados al microscopio, cuando crecen en un ambiente natural, se desarrollen en cultivo puro en un medio artificial; por ejemplo, ciertas formas parásitas nunca se han podido cultivar fuera del huésped. Sin embargo, por lo general

se puede diseñar un medio adecuado en el cual se reproducen cuidadosamente las condiciones que el microorganismo encuentra en su ambiente natural. Es fácil reproducir el pH, la temperatura y la aireación; el mayor problema lo representan los nutrientes. La contribución del ambiente natural de vida es importante y difícil de analizar; un parásito puede requerir un extracto de los tejidos del huésped, mientras que una forma de vida libre puede necesitar una sustancia excretada por un microorganismo con el cual se encuentra vinculado en la naturaleza. Pueden ser necesarios muchos experimentos para determinar los requerimientos de un microorganismo y el éxito depende de suministrar una fuente adecuada de cada categoría de los nutrientes enumerados al principio de este capítulo. El cultivo de parásitos obligados, como las rickettsias, se expone en el capítulo 47.

B. Examen microbiológico de materiales naturales

Un material natural determinado puede contener muchos microambientes diferentes y proporcionar cada uno un nicho para diversas especies. La siembra en placas de una muestra del material, bajo una serie de condiciones, permite producir colonias a un grupo seleccionado de microorganismos, pero hace pasar inadvertidos muchos otros tipos. Por esa razón, se acostumbra sembrar muestras del material en placas con el uso de tantos medios y condiciones de incubación diferentes como sea posible. De 6 a 8 condiciones distintas de cultivo no son un número exagerado si se pretende descubrir a la mayor parte de los microorganismos presentes.

Como cada tipo de microorganismo presente debe tener la oportunidad de crecer, se utilizan medios de cultivo sólidos al tiempo que se evita la aglomeración de las colonias, pues, de otra manera, la competencia impedirá que algunos tipos las formen.

C. Aislamiento de un tipo particular de microorganismo

Si se manipula de manera correcta una pequeña muestra de suelo proporcionará un tipo diferente de microorganismo por cada microambiente presente. Para un suelo fértil (humedo, aireado, rico en minerales y materia orgánica) esto significa que pueden aislarse cientos y aun miles de tipos. Esto se hace mediante la selección del tipo deseado: por ejemplo, un gramo de suelo se inocula en un matraz con medio líquido, el cual se ha preparado para favorecer el crecimiento de cierto tipo de microorganismos, por ejemplo, aerobios fijadores del nitrógeno (*Azotobacter*). En este caso, el medio contiene nitrógeno no combinado y se incuba en aerobiosis. Si se encuentran en el suelo células de *Azotobacter*, crecerán bien en este medio, mientras formas incapaces de fijar el nitrógeno crecerán sólo hasta el grado en que el suelo haya introducido nitrógeno fijado como contaminante dentro del medio. Por tanto, cuando el cultivo esté completamente crecido, el porcentaje de *Azotobacter* en la población total habrá aumentado de modo considerable; el método recibe el nombre de "cultivo de enriquecimiento". La transferencia de una muestra de este cultivo a uno fresco provocará mayor enriquecimiento del *Azotobacter*; después de varias transferencias seriadas, el cultivo puede sembrar-

se en un medio de enriquecimiento sólido y aislarse las colonias de *Azotobacter*.

El medio líquido se emplea para permitir la competencia y, por tanto, la selección óptima, aun cuando el tipo deseado sólo esté representado en el suelo por unas cuantas células en una población de millones. Se puede sacar ventaja del "enriquecimiento natural": por ejemplo, para buscar bacterias oxidantes del queroseno se elige un suelo cargado con aceite, ya que éste es, desde luego, un medio de enriquecimiento para tales bacterias.

Por tanto, el cultivo de enriquecimiento es un procedimiento mediante el cual se prepara el medio de cultivo para reproducir el ambiente natural ("nicho") del microorganismo deseado y seleccionarlo de esta manera. Un principio importante relacionado con dicha selección es el siguiente: el microorganismo seleccionado será aquel cuyos requerimientos nutricionales sean apenas satisfechos. Por ejemplo, *Azotobacter* se desarrolla mejor en un medio que contenga nitrógeno orgánico, pero su requerimiento mínimo es la presencia de N_2 ; por tanto, se selecciona un medio que contenga N_2 como la única fuente de nitrógeno. Si se añade nitrógeno orgánico al medio las condiciones ya no son selectivas para el *Azotobacter*, sino más bien para bacterias en las cuales el nitrógeno orgánico es un requerimiento mínimo.

Cuando se busca un tipo particular de microorganismo en un material natural, es una ventaja sembrar los microorganismos obtenidos en un medio diferencial si se dispone de él. Un medio diferencial es aquel que causa que colonias de

un tipo particular de microorganismos tengan un aspecto distintivo. Por ejemplo, las colonias de *E. coli* tienen un brillo iridiscente característico en el agar que contiene los colorantes eosina y azul de metileno (agar EMB). El agar EMB, que tiene además una gran concentración de un azúcar, también da lugar a que los microorganismos fermentadores de dicho azúcar formen colonias rojizas. Los medios diferenciales se utilizan para identificar bacterias entericas en el agua o en la leche, así como ciertos microorganismos patógenos en las muestras clínicas.

El cuadro 5-2 presenta ejemplos de condiciones de enriquecimiento de los cultivos y los tipos de bacterias que seleccionarán.

Aislamiento de microorganismos en cultivo puro

Para estudiar las propiedades de un microorganismo dado es necesario manejarlo en cultivo puro, libre de otros microorganismos. Para hacer esto, debe aislarse una sola célula de todas las demás y cultivarse de tal manera que su progenie también permanezca aislada. Para esto se dispone de varios métodos.

A. Sembrado en placa

A diferencia de las células que crecen en un medio líquido, las células que crecen sobre o dentro de medios sólidos se

Cuadro 5-2. Algunos cultivos de enriquecimiento.
Ingredientes de todos los medios: $MgSO_4$, K_2HPO_4 , $FeCl_3$, $CaCl_2$, $CaCO_3$, trazas de elementos

Fuente de nitrógeno	Fuente de carbono	Atmósfera	Iluminación	Organismo predominante inicialmente enriquecido
N_2	CO_2	Aeróbica o anaeróbica	Oscuridad	Ninguno
			Luz	Cianobacterias
	Alcohol, ácidos grasos, etc.	Anaeróbica	Oscuridad	Ninguno
		Aire	Oscuridad	<i>Azotobacter</i>
	Glucosa	Anaeróbica	Oscuridad	<i>Clostridium pasteurianum</i>
		Aire	Oscuridad	<i>Azotobacter</i>
$NaNO_3$	CO_2	Aeróbica o anaeróbica	Oscuridad	Ninguno
			Luz	Algas verdes y cianobacterias
	Alcohol, ácidos grasos, etc.	Anaeróbica	Oscuridad	Desnitrificantes
		Aire	Oscuridad	Aerobios
	Glucosa	Anaeróbica	Oscuridad	Fermentadores
		Aire	Oscuridad	Aerobios
NH_4Cl	CO_2	Anaeróbica	Oscuridad	Ninguno
		Aeróbica	Oscuridad	<i>Nitrosomonas</i>
		Aeróbica o anaeróbica	Luz	Algas verdes y cianobacterias
	Alcohol, ácidos grasos, etc.	Anaeróbica	Oscuridad	Reductores sulfatos o carbonatos
		Aeróbica	Oscuridad	Aerobios
	Glucosa	Anaeróbica	Oscuridad	Fermentadores
		Aeróbica	Oscuridad	Aerobios

encuentran inmóviles; por consiguiente, si algunas células se colocan en o sobre un medio gelificado, cada una crece y da una colonia aislada. El gel ideal para la mayor parte de los medios microbiológicos es el agar, un polisacárido ácido extraído de ciertas algas rojas. Una suspensión acuosa del 1.5 al 2% se disuelve a 100 °C para formar una solución clara que solidifica a 45 °C. Así, una solución estéril de agar puede enfriarse a 50 °C, se añaden bacterias u otras células microbianas, y la solución se enfría rápidamente a temperaturas inferiores a 45 °C para formar un gel. (Aunque la mayor parte de las células microbianas mueren a 50 °C, el curso cronológico del proceso exterminante es lo suficientemente lento a esta temperatura como para permitir este procedimiento, figura 4-3.) Una vez gelificado, el agar no se licua de nuevo sino hasta que se caliente a temperaturas mayores de 80 °C, de manera que para la incubación de un cultivo microbiano puede usarse, posteriormente, cualquier temperatura adecuada. En el método de vaciado en placa se mezcla una suspensión de células con agar fundido a 50 °C y se vacía en una **caja de Petri**; cuando el agar solidifica, las células se inmovilizan en éste y crecen en colonias. Si la suspensión de células estaba suficientemente diluida, las colonias estarán bien separadas, de tal suerte que cada una tiene una gran probabilidad de haber derivado de una célula única. Sin embargo, para estar seguros, se toma una colonia del tipo deseado, se suspende en agua y se vuelve a sembrar en placa. La repetición de este procedimiento varias veces asegura la obtención de un cultivo puro.

Alternativamente, la suspensión original puede sembrarse en estrías con un asa de alambre en una placa de agar. Al avanzar la estría, van quedando menos células en el asa y, por último, ésta puede depositar células aisladas sobre el agar. Se incuba la placa y se toma cualquier colonia bien aislada, se resuspende en agua y se siembra de nuevo en estría sobre el agar. Este método es tan confiable como el de vaciado en placa y mucho más rápido si una suspensión se siembra en estría (y no sólo un fragmento pequeño de una colonia o del cultivo en la placa inclinada).

B. Dilución

Un método menos seguro es el de dilución por extinción. De la suspensión se hacen diluciones seriadas y se siembra cada una en placa. Si sólo algunos inóculos de una dilución particular tienen desarrollo, se presume que alguno de las colonias partieron de células únicas. Este método no se usa a menos que por alguna razón sea imposible la siembra en

placa. Una desventaja de este método es que sólo se puede utilizar para aislar el tipo de microorganismo predominante en una población mixta.

Preguntas de revisión

- La mayor parte de los microorganismos patógenos para humanos crecen mejor en el laboratorio cuando los cultivos son incubados a:
 - 15-20 °C
 - 20-30 °C
 - 30-37 °C
 - 38-50 °C
 - 50-55 °C
- El proceso por medio del cual los microorganismos forman ATP durante la fermentación de glucosa se caracteriza por:
 - Acoplamiento de la producción de ATP con la transferencia de electrones
 - Desnitrificación
 - Reducción de oxígeno
 - Fosforilación del sustrato
 - Respiración anaerobia
- ¿Cuál de las siguientes técnicas y medios de cultivo registran el mayor número de especies de microbios en una muestra de heces?
 - Cultivo de enriquecimiento.
 - Sembrado en placa de un medio seleccionado.
 - Sembrado en placa de un medio diferencial.
 - Caldos de cultivo enriquecido.
- La polimerización de los bloques de construcción (p. ej. aminoácidos) se logra en gran medida por:
 - Deshidratación
 - Reducción
 - Oxidación
 - Asimilación
 - Hidrólisis
- Una variedad de *Escherichia coli* experimenta una mutación tal que ya no puede crecer en un medio definido que consiste en glucosa, sales minerales y cloruro de amonio. Sin embargo, es capaz de crecer en este medio si se añade metionina. La metionina es conocida como:
 - Una sal inorgánica
 - Una fuente de sulfuro
 - Un factor de crecimiento
 - Una fuente de energía
 - Una fuente de nitrógeno

Respuestas: 1 = C; 2 = D; 3 = E; 4 = A; 5 = C.

REFERENCIAS

- Adams MW: Enzymes and proteins from organisms that grow near or above 100 degrees C. *Annu Rev Med* 1993; 47:627.
- Koch AL: Microbial physiology and ecology of slow grow near. *Microbiol Molec Biol Rev* 1997; 61:305.
- Lederberg J (editor): *Encyclopedia of Microbiology*. 4 vol. Academic Press 1992.
- Maier RM, Pepper IL, Gerba CP: *Environmental Microbiology*. Academic Press. 1992.
- Marzluf GA: Regulation of sulfur and nitrogen metabolism in filamentary fungi. *Annu Rev Microbiol* 1993; 42:89.
- Pelczar MJ Jr, Chan ECS, Krieg NR: *Microbiology: Concepts and Applications*. McGraw-Hill 1993.

Metabolismo microbiano

FUNCIÓN DEL METABOLISMO EN LA BIOSÍNTESIS Y EL CRECIMIENTO

El crecimiento microbiano requiere la polimerización de los elementos bioquímicos constitutivos en proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos y lípidos. Los elementos constitutivos deben encontrarse preformados en el medio o sintetizarse por las células en crecimiento. El requerimiento de coenzimas que participan en la catálisis enzimática impone demandas biosintéticas adicionales. Las reacciones biosintéticas de polimerización exigen la transferencia de enlaces anhidrido a partir del ATP. El crecimiento requiere una fuente de energía metabólica para la síntesis de enlaces anhidrido y para mantener los gradientes de iones y metabolitos a través de la membrana.

Los orígenes biosintéticos de los elementos constitutivos y de las coenzimas se pueden seguir hasta relativamente pocos precursores llamados **metabolitos focales**. Las figuras 6-1, 6-2, 6-3 y 6-4 ilustran la manera en que los metabolitos focales glucosa 6-fosfato, fosfoenolpiruvato, oxaloacetato y α -cetoglutarato originan la mayor parte de los productos biosintéticos terminales. El metabolismo microbiano se puede dividir en cuatro categorías generales: 1) vías para la interconversión de metabolitos focales, 2) vías de asimilación para la formación de metabolitos focales, 3) secuencias biosintéticas para la conversión de metabolitos focales a productos terminales y 4) vías que producen energía metabólica para el crecimiento y la conservación.

Una célula sintetiza macromoléculas cuando se le proporcionan elementos constitutivos y una fuente de energía

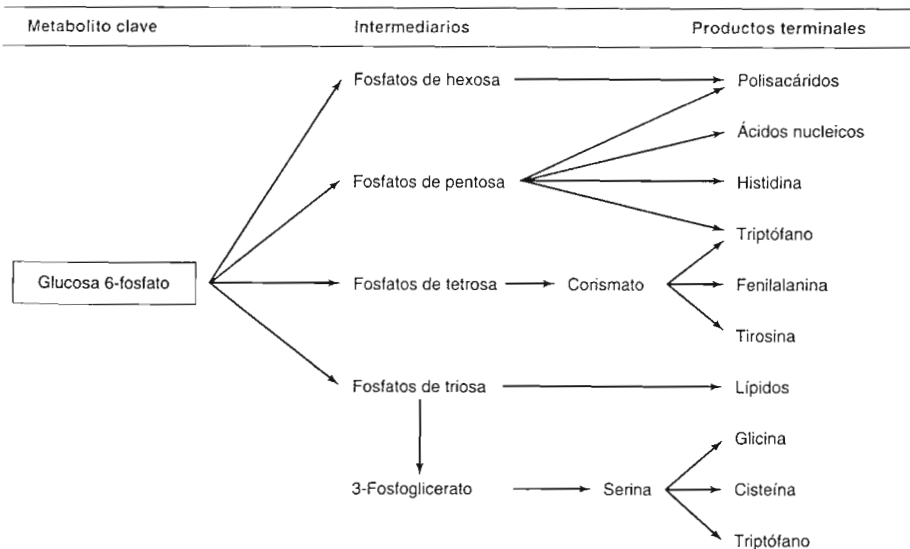


Figura 6-1. Productos biosintéticos terminales formados a partir de la glucosa 6-fosfato. Los ésteres de fosfato de los carbohidratos de diversas longitudes de cadena sirven como intermediarios en las vías biosintéticas.

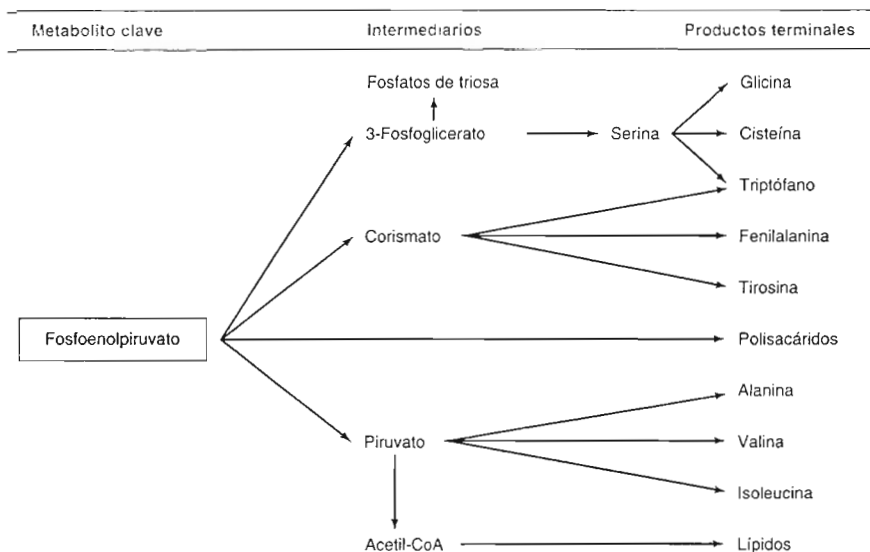


Figura 6-2. Productos biosintéticos terminales formados a partir del fosfoenolpiruvato.

metabólica. La secuencia de elementos constitutivos dentro de una macromolécula está determinada por una de dos maneras. En los ácidos nucleicos y en las proteínas está **dirigida por una plantilla**: el DNA sirve como plantilla para su propia síntesis y para la síntesis de varios tipos de RNA; el RNA mensajero sirve como plantilla para la síntesis de proteínas. En los carbohidratos y lípidos, por otra parte, el acomodo de los elementos constitutivos está determinado totalmente por la especificidad de las enzimas. Una vez que se sintetizan las macromoléculas, se autoensamblan para formar las estructuras supramoleculares de las células, por ejemplo, ribosomas, membranas, pared celular, flagelos y fimbrias.

La tasa de síntesis macromolecular y la actividad de las vías metabólicas debe ser regulada para que la biosíntesis esté balanceada. Todos los componentes requeridos para la

síntesis macromolecular deben estar presentes para tener un crecimiento ordenado y debe existir un control para que los recursos de la célula no se gasten en productos que no contribuyan al crecimiento o a la supervivencia.

Este capítulo contiene una revisión del metabolismo microbiano y de su regulación. Los microorganismos representan los extremos de la divergencia evolutiva y dentro de ellos se encuentra una gran variedad de vías metabólicas. Por ejemplo, para la asimilación de un compuesto relativamente simple, como el benzoato, puede utilizarse cualquiera de las más de media docena de vías metabólicas diferentes y una sola vía metabólica para la asimilación del benzoato puede estar regulada por cualquiera de la más de media docena de mecanismos de control. El objetivo es explicar los principios básicos de las vías metabólicas y de su regulación. El prin-

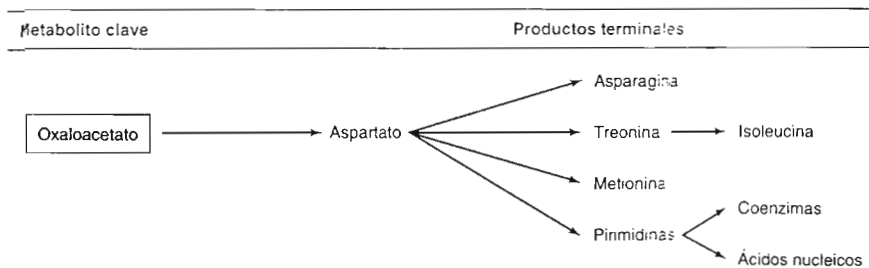


Figura 6-3. Productos biosintéticos terminales formados a partir del oxaloacetato. Los productos finales treonina y pirimidinas sirven como intermediarios en la síntesis de compuestos adicionales.

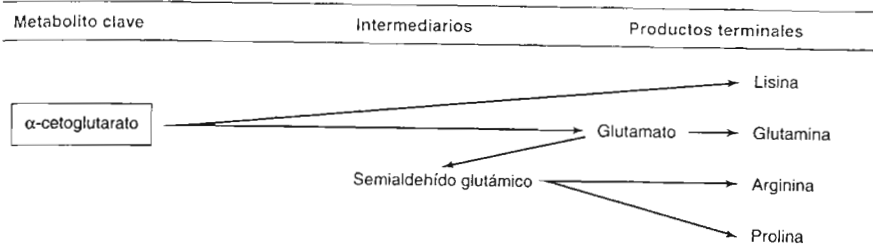


Figura 6-4. Productos biosintéticos terminales formados a partir del α -cetoglutarato.

pio elemental que regula a las vías metabólicas es que éstas funcionen mediante el ordenamiento de relativamente pocos tipos de reacciones bioquímicas en un orden específico. Muchas vías biosintéticas se pueden deducir mediante el análisis de las estructuras químicas del material de inicio, del producto final y, quizá, de 1 o 2 intermediarios metabólicos. El principio elemental subyacente a la regulación metabólica es que las enzimas tienden a participar sólo cuando se requiere su actividad catalítica. La actividad de una enzima puede cambiarse al modificar la cantidad de la enzima o la cantidad del sustrato. En algunos casos, la actividad de las enzimas puede alterarse mediante la unión de **efectores** específicos, metabolitos que modulan la actividad enzimática.

METABOLITOS FOCALES Y SU INTERCONVERSIÓN

Interconversiones de glucosa 6-fosfato y carbohidratos

La figura 6-1 explica cómo la glucosa 6-fosfato se convierte en diversos productos biosintéticos terminales por medio de ésteres fosfatados de carbohidratos con diferentes longitudes de cadena. Los carbohidratos tienen la fórmula empírica $(CH_2O)_n$, y el objetivo primario del metabolismo de los carbohidratos es cambiar la n , es decir, la longitud de la cadena de carbonos. En la figura 6-5 se resumen los mecanismos por los cuales se interconvierten las longitudes de las cadenas de carbohidratos fosfatados. En un caso se usan reacciones oxidativas para eliminar un solo carbono de la glucosa 6-fosfato y producir la pentosa derivada ribulosa 5-fosfato. Las reacciones de la isomerasa y epimerasa interconvierten las variedades bioquímicas más comunes de las pentosas: ribulosa 5-fosfato, ribosa 5-fosfato y xilulosa 5-fosfato. Las transcetolasas transfieren un fragmento de dos carbonos de una molécula donadora a una aceptora. Estas reacciones permiten a las pentosas formar o ser formadas por carbohidratos de diversas longitudes de cadena. Como se muestra en la figura 6-5, dos pentosas 5-fosfato ($n = 5$) se interconvierten con triosa 3-fosfato ($n = 3$) y heptosa 7-fosfato ($n = 7$); la pentosa 5-fosfato ($n = 5$) y la tetrosa 4-fosfato ($n = 4$) se interconvierten con la triosa 3-fosfato ($n = 3$) y con la hexosa 6-fosfato ($n = 6$).

La cadena de hexosa de seis carbonos de la fructosa 6-fosfato se puede convertir a dos derivados triosa de tres car-

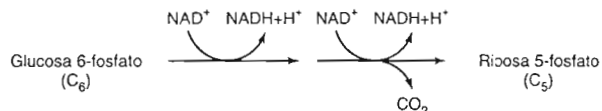
bonos mediante las acciones consecutivas de una cinasa y de una aldolasa sobre la fructosa 6-fosfato. De manera alterna, las aldolasas, en acción conjunta con las fosfatasa, pueden usarse para alargar las moléculas de carbohidratos: las triosas fosfato dan lugar a la fructosa 6-fosfato; una triosa fosfato y una tetrosa 4-fosfato forman a la heptosa 7-fosfato. El mecanismo final de interconversión de la longitud de la cadena del carbohidrato es la reacción de la transaldolasa, que interconvierte a la heptosa 7-fosfato y a la triosa 3-fosfato en tetrosa 4-fosfato y hexosa 6-fosfato.

La coordinación de la reorganización de diferentes reacciones de carbohidratos para lograr un objetivo metabólico global se ejemplifica por la derivación del monofosfato de hexosa (figura 6-6). Este ciclo metabólico lo usan las bacterias verdeazules para la reducción del NAD^+ a NADH, el cual sirve como un reductor para la respiración en la oscuridad. Muchos microorganismos utilizan la derivación del monofosfato de hexosa para reducir $NADP^+$ al NADPH, utilizado en reacciones biosintéticas de reducción. Los primeros pasos en la derivación del monofosfato de hexosa son las reacciones de oxidación que acortan a seis hexosas 6-fosfato (que se abrevian como $6C_6$ en la figura 6-6) a seis pentosas 5-fosfato (que se abrevian como $6C_5$). Las reacciones de redistribución de los carbohidratos convierten a las seis moléculas C_5 a cinco moléculas C_6 , de modo que puede proseguir el ciclo oxidativo.

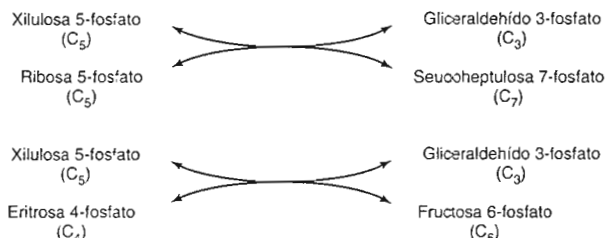
Está claro que todas las reacciones para la interconversión de la longitud de la cadena de carbohidratos no participan al mismo tiempo. La selección de grupos específicos de enzimas, esencialmente la determinación de la vía metabólica emprendida, depende de la fuente del carbono y de las demandas biosintéticas de la célula. Por ejemplo, la célula que recibe triosa fosfato como fuente de carbohidratos utiliza la combinación aldolasa-fosfatasa para formar fructosa 6-fosfato; la cinasa que actúa sobre la fructosa 6-fosfato en su conversión a triosa fosfato no se espera que esté activa en estas circunstancias. Si las demandas de pentosa 5-fosfato son grandes, como en el caso de la asimilación fotosintética del dióxido de carbono, están muy activas las transcetolasas que pueden dar lugar a pentosa 5-fosfato.

En suma, se puede considerar a la glucosa 6-fosfato como un metabolito focal porque sirve como precursor directo para los elementos constitutivos metabólicos y como una fuente de carbohidratos de diversa longitud utilizados para propósitos biosintéticos. La misma glucosa 6-fosfato puede generarse a partir de otros carbohidratos fosforilados

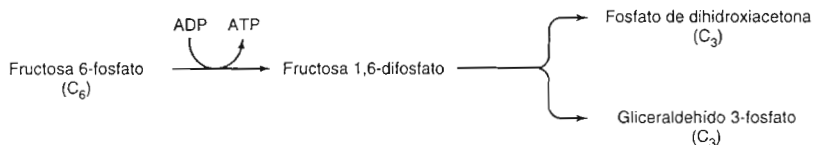
Deshidrogenasas



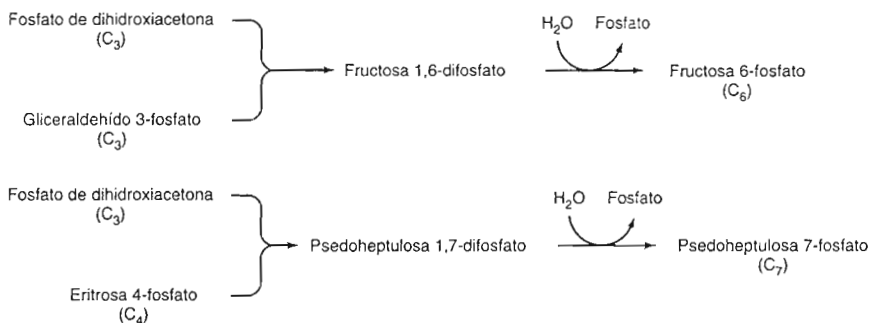
Transcetolasas



Cinasa, aldolasa



Aldolasa, fosfatasa



Transaldolasa



Figura 6-5. Mecanismos bioquímicos para el cambio de la longitud de las moléculas de carbohidratos. La fórmula empírica general de los ésteres de fosfato de los carbohidratos, (C_nH_{2n}O_n)-M-fosfato, se abrevia (C_n) para resaltar los cambios en la longitud de la cadena.

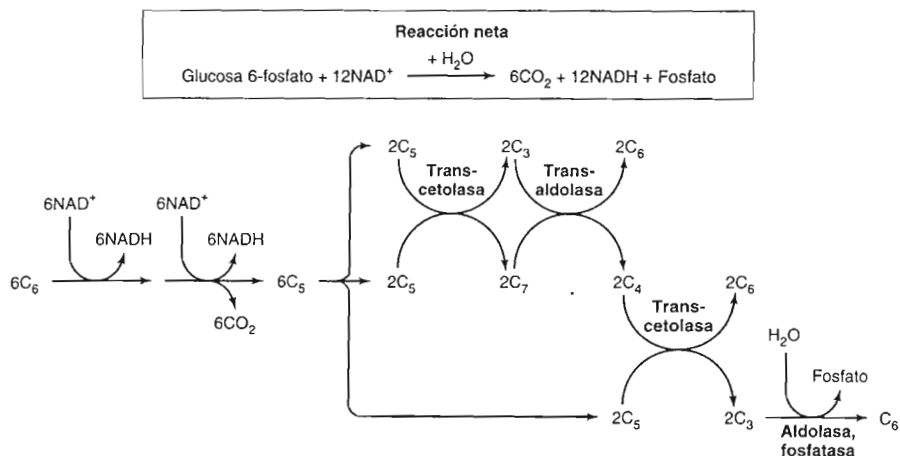


Figura 6-6. Derivación del monofosfato de hexosa. Las reacciones oxidativas (figura 6-5) reducen al NAD^+ y producen CO_2 , lo que resulta en el acortamiento de los seis fosfatos de hexosa (abreviados C_6) a seis fosfatos de pentosa (que se abrevian C_5). Las redistribuciones de los carbohidratos (figura 6-5) convierten a los fosfatos de pentosa en fosfatos de hexosa, de modo que puede proseguir así el ciclo oxidativo.

mediante la selección de vías de entre un grupo de reacciones para la interconversión de la longitud de la cadena. Las reacciones escogidas están determinadas por el potencial genético de la célula, la fuente primaria de carbono y las demandas biosintéticas del microorganismo. La regulación metabólica se requiere para asegurar la selección de aquellas reacciones que satisfagan los requerimientos del microorganismo.

Formación y utilización del fosfoenolpiruvato

Los fosfatos de triosa, formados por la interconversión de los fosfoésteres de los carbohidratos, se convierten a fosfoenolpiruvato mediante una serie de reacciones que se muestran en la figura 6-7. La oxidación del gliceraldehído 3-fosfato por el NAD^+ se acompaña de la formación del

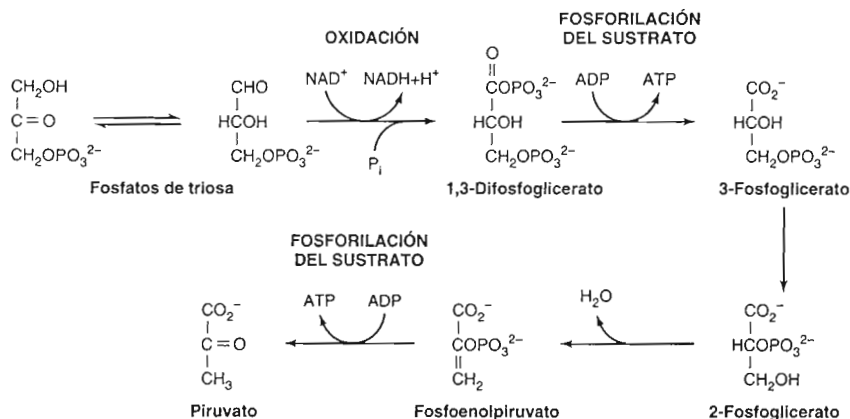


Figura 6-7. Formación de fosfoenolpiruvato y piruvato a partir del fosfato de triosa. Esta figura llama la atención acerca de los dos sitios de fosforilación del sustrato y de la etapa oxidativa que resulta en la reducción del NAD^+ hasta NADH . La repetición de esta vía productora de energía requiere un mecanismo para oxidar al NADH hasta NAD^+ . Los microorganismos fermentadores logran este objetivo con el empleo como agentes oxidantes del piruvato o de metabolitos derivados de éste.

enlace anhídrido ácido sobre el carbono 1 del 1,3-difosfoglicerato. Este anhídrido de fosfato se transfiere al ADP mediante una **fosforilación del sustrato** y genera un enlace abundante en energía en el ATP. Otro enlace de fosfato abundante en energía se forma por la deshidratación del 2-fosfoglicerato a fosfoenolpiruvato; y a través de otra fosforilación del sustrato, el fosfoenolpiruvato puede donar al ADP el enlace abundante en energía para producir ATP y piruvato. De esta manera se pueden obtener dos enlaces abundantes en energía en el ATP mediante la conversión metabólica de la triosa fosfato a piruvato. Esta conversión es un proceso oxidativo y, en ausencia de un aceptor de electrones hexógeno, el NADH generado por la oxidación del gliceraldehído 3-fosfato debe oxidarse a NAD⁺ por el piruvato o por los metabolitos derivados de éste. Los productos formados como resultado de este proceso son variables y, como se describe en este capítulo, pueden usarse en la identificación de bacterias clínicamente significativas.

La formación de fosfoenolpiruvato a partir del piruvato requiere una cantidad importante de energía metabólica e invariablemente participan en este proceso dos enlaces anhídrido ATP. Algunos microorganismos (p. ej., *Escherichia coli*) fosforilan directamente al piruvato con ATP y producen AMP y fosfato inorgánico (P_i). Otros emplean dos pasos metabólicos: se utiliza un enlace ATP pirofosfato en la carboxilación del piruvato a oxaloacetato y un segundo enlace pirofosfato (con frecuencia transportado por GTP más que por ATP) se utiliza para generar fosfoenolpiruvato a partir de oxaloacetato.

Formación y utilización del oxaloacetato

Como ya se describió, muchos microorganismos forman oxaloacetato mediante la carboxilación del piruvato dependiente del ATP. Otros microorganismos como *E. coli*, que forman fosfoenolpiruvato directamente a partir del piruvato, sintetizan oxaloacetato por carboxilación del fosfoenolpiruvato.

La succinil-CoA es un precursor biosintético necesario para la síntesis de porfirinas y otros compuestos esenciales. Algunos organismos forman succinil-CoA mediante la reducción del oxaloacetato por la vía del malato y del fumarato. Estas reacciones representan lo contrario del flujo metabólico observado en el ciclo convencional del ácido tricarbóxico (figura 6-10).

Formación de α -cetoglutarato a partir del piruvato

La conversión del piruvato a α -cetoglutarato requiere de una vía metabólica que primero diverge y luego converge (figura 6-8). En una rama se forma oxaloacetato por carboxilación del piruvato o del fosfoenolpiruvato. En la otra rama el piruvato se oxida a acetil-CoA. Es notorio que independientemente del mecanismo enzimático usado para la formación del oxaloacetato, se requiere la acetil-CoA como un efector metabólico positivo para este proceso. De esta manera, la síntesis de oxaloacetato se equilibra con la producción de acetil-CoA. La condensación del oxaloacetato con la acetil-CoA

produce citrato. La isomerización de la molécula de citrato produce isocitrato, que se descarboxila de manera oxidativa hasta α -cetoglutarato.

VÍAS DE ASIMILACIÓN

Crecimiento con acetato

El acetato se metaboliza por la vía de la acetil-CoA y muchos microorganismos tienen la capacidad de formar acetil-CoA (figura 6-9). La acetil-CoA se utiliza en la biosíntesis de α -cetoglutarato, y en la mayor parte de los microorganismos respiratorios el fragmento acetilo en la acetil-CoA se oxida completamente a dióxido de carbono por la vía del ciclo del ácido tricarbóxico (figura 6-10). Sin embargo, la capacidad para utilizar acetato como una fuente neta de carbono está limitada a relativamente pocos microorganismos y plantas. La síntesis neta de precursores biosintéticos a partir del acetato se logra por acoplamiento de las reacciones del ciclo del ácido tricarbóxico con dos reacciones adicionales catalizadas por la isocitratoliasa y la malatossintetasa. Como se muestra en la figura 6-11, estas reacciones permiten la conversión oxidativa neta de dos mitades de la acetil-CoA a una molécula de succinato. El succinato puede utilizarse para propósitos biosintéticos después de su conversión a oxalacetato. α -cetoglutarato, fosfoenolpiruvato o glucosa 6-fosfato.

Crecimiento con dióxido de carbono: ciclo de Calvin

Al igual que las plantas y las algas, diversas especies microbianas pueden usar dióxido de carbono como única fuente de carbono. En casi todos estos microorganismos la ruta primaria de asimilación del carbono es la del ciclo de Calvin, en la que el dióxido de carbono y la ribulosa difosfato se combinan para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato (figura 6-12A). El 3-fosfoglicerato se fosforila a 1,3-difosfoglicerato y este compuesto se reduce hasta el derivado triosa gliceraldehído 3-fosfato. Las reacciones de redistribución de los carbohidratos (figura 6-5) permiten la conversión de la triosa fosfato al derivado pentosa, la ribulosa 5-fosfato; ésta se fosforila hasta regenerar a la molécula aceptora, la ribulosa 1,5-difosfato (figura 6-12B). El carbono adicional reducido, formado por la asimilación reductiva del dióxido de carbono, se convierte a metabolito focal para vías biosintéticas.

Las células que pueden usar el dióxido de carbono como única fuente de carbono se han denominado **autótroficas** y las demandas de este patrón de asimilación de carbono se pueden resumir brevemente como sigue: además de la reacción asimilatoria primaria que da lugar al 3-fosfoglicerato, debe haber un mecanismo para regenerar a la molécula aceptora, la ribulosa 1,5-difosfato. Este proceso requiere la reducción dependiente de energía del 3-fosfoglicerato hasta el nivel de carbohidrato. De esta manera, la autotrofia requiere dióxido de carbono, ATP, NADPH y un grupo específico de enzimas.

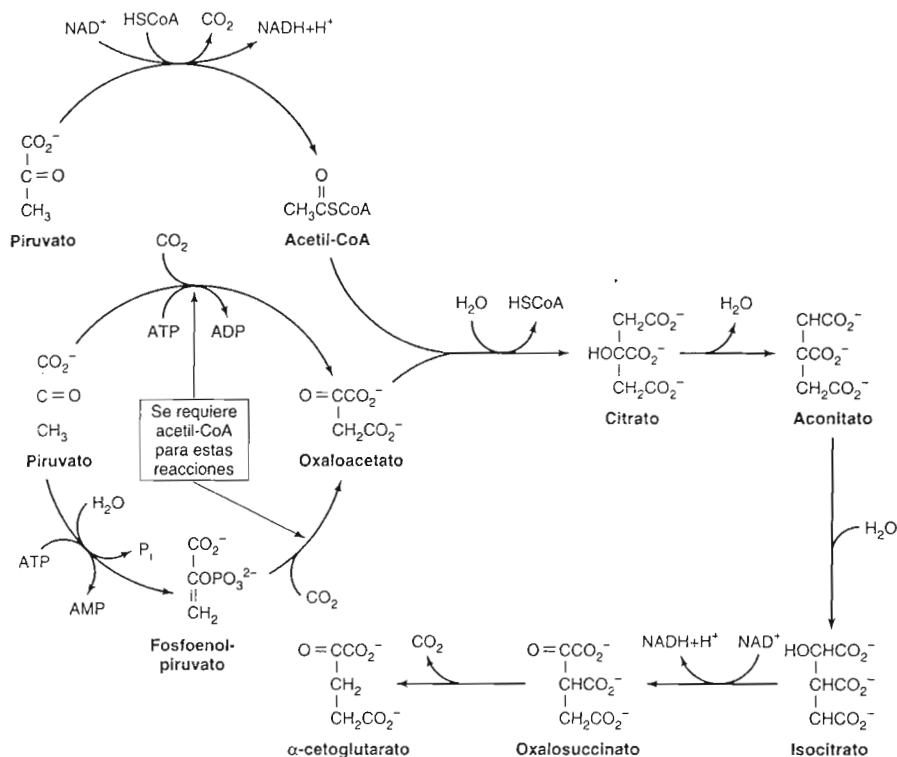


Figura 6-8. Conversión del piruvato en α -cetoglutarato. El piruvato se convierte en α -cetoglutarato por medio de una vía biosintética ramificada. En una de las ramas el piruvato se oxida hasta acetil-CoA; en la otra se carboxila hasta oxaloacetato.

Despolimerasas

Muchos sustratos potenciales para el crecimiento se encuentran como elementos constitutivos dentro de la estructura de los polímeros biológicos. Estas moléculas grandes no son fácilmente transportadas a través de la membrana y con frecuencia están fijadas a estructuras de incluso mayor tamaño que ellas. Varios microorganismos elaboran despolimerasas extracelulares que hidrolizan a las proteínas, a los ácidos nucleicos, a los polisacáridos y a los lípidos. El patrón de actividades de las despolimerasas puede ser útil en la identificación de microorganismos.

Oxigenasas

Muchos compuestos en el ambiente son relativamente resistentes a la modificación enzimática, y la utilización de estos compuestos como sustratos de crecimiento requiere una clase especial de enzimas, las oxigenasas. Estas enzimas emplean de manera directa al oxígeno molecular, potente

oxidante, como un sustrato en las reacciones que convierten a un compuesto que no es fácilmente manipulable a una forma en la cual puede ser asimilado mediante reacciones favorecidas termodinámicamente. La acción de las oxigenasas se ilustra en la figura 6-13, en la que se muestra la función de dos diferentes oxigenasas en la utilización del benzoato.

Vías reductivas

Algunos microorganismos viven en ambientes extremadamente reductores, los cuales favorecen las reacciones químicas que no ocurrirían en microorganismos que utilizan el oxígeno como un aceptor de electrones. En estos microorganismos pueden usarse potentes agentes reductores para impulsar las reacciones que permitan la asimilación de compuestos relativamente poco manejables. Un ejemplo es la asimilación reductiva del benzoato, un proceso en el cual el anillo aromático se reduce y se abre para formar el pimelato del ácido dicarboxílico. Reacciones metabólicas posteriores convierten al pimelato en metabolitos focales.

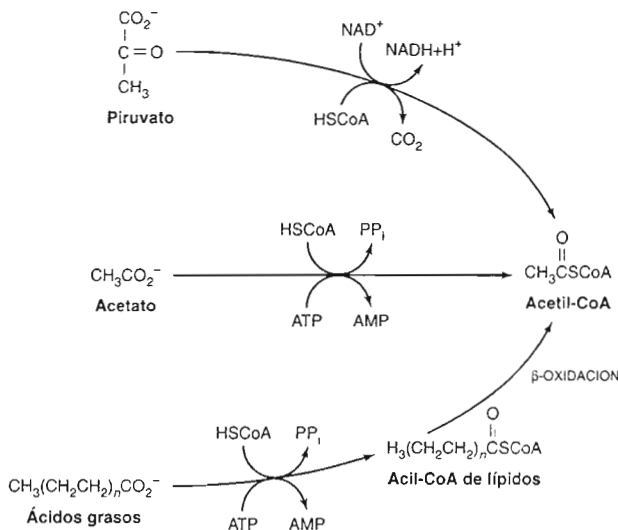


Figura 6-9. Fuentes bioquímicas de acetil-CoA.

Asimilación del nitrógeno

Se requiere la asimilación reductiva del nitrógeno molecular, también conocida como **fijación del nitrógeno**, para que continúe la vida en nuestro planeta. La fijación del nitrógeno la realizan diversas bacterias y cianobacterias mediante un sistema **nitrogenasa** multicomponente. No obstante la variedad de microorganismos capaces de fijar nitrógeno, el complejo nitrogenasa es similar en la mayor parte de ellos (figura 6-14). La nitrogenasa es un complejo de dos enzimas: una enzima contiene hierro, y la otra, hierro y molibdeno. Estas enzimas, al actuar juntas, catalizan la siguiente reacción:



Esta asimilación reductiva del nitrógeno requiere una cantidad importante de energía metabólica: se hidrolizan de 12 a 16 moléculas de ATP conforme una sola molécula de N_2 se reduce a dos moléculas de NH_3 mediante tres moléculas de $\text{NADH} + \text{H}^+$.

Se imponen demandas fisiológicas adicionales por el hecho de que la nitrogenasa se inactiva fácilmente por el oxígeno. Los microorganismos aerobios que emplean nitrogenasa han desarrollado mecanismos elaborados para proteger a esta enzima de la inactivación. Algunos forman células especializadas en las que se realiza la fijación del nitrógeno y otros tienen cadenas de transporte de electrones muy rebuscadas para lograr esa protección. Las más significativas de estas bacterias en la agricultura son las *Rhizobiaceae*, microorganismos que fijan nitrógeno simbióticamente en los nódulos de las raíces de las plantas leguminosas.

La capacidad para usar amoníaco como fuente de nitrógeno está ampliamente distribuida entre los microorganismos. La puerta de entrada del nitrógeno en el metabolismo del carbono es el glutamato, formado por la aminación reductiva del α -cetoglutarato. Como se muestra en la figura 6-15, hay dos mecanismos bioquímicos por los cuales esto se puede lograr. Uno es la reducción en una sola etapa catalizada por la glutamatodeshidrogenasa (figura 6-15A), el cual es efectivo en ambientes en los que existe una provisión amplia de amoníaco. El otro es un proceso en dos pasos, en el cual la glutamina es un intermediario (figura 6-15B) y es empleado en ambientes en los que el amoníaco es escaso. Este último mecanismo permite a las células utilizar la energía libre formada por la hidrólisis de un enlace pirofosfato en el ATP para la asimilación del amoníaco del ambiente.

La amida nitrogenada de la glutamina, un intermediario en la asimilación en dos etapas del amoníaco en glutamato (figura 6-15B) también se transfiere directamente al nitrógeno orgánico que aparece en las estructuras de purinas, pirimidinas, arginina, triptófano y glucosamina. La actividad y la síntesis de la glutaminosintetasa se regulan por el aporte de amoníaco y por la disponibilidad de los metabolitos que contienen nitrógeno derivado de modo directo de la amida nitrogenada de la glutamina.

La mayor parte del nitrógeno orgánico en las células se obtiene del grupo α -amino del glutamato, y el mecanismo principal por el cual el nitrógeno se transfiere es la **transaminación**. El aceptor común en estas reacciones es un ácido α -ceto, que se transforma al correspondiente ácido α -amino. El α -cetoglutarato, el otro producto de la reacción de la transaminación, puede convertirse a glutamato por una aminación reductiva (figura 6-15).

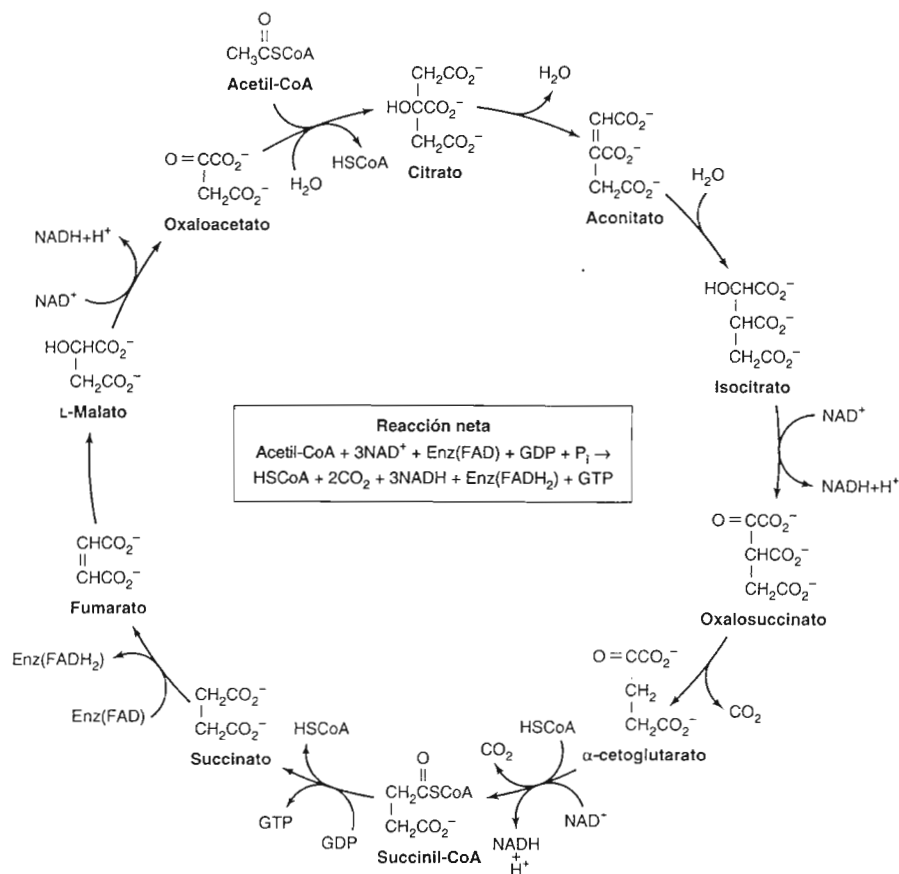


Figura 6-10. Ciclo del ácido tricarboxílico. Son cuatro las etapas oxidativas, tres de las cuales producen NADH y la otra una flavoproteína reducida, Enz(FADH₂). El ciclo puede proseguir sólo si se dispone de aceptores de electrones para oxidar el NADH y la flavoproteína reducida.

VÍAS BIOSINTÉTICAS

Rastreo de las estructuras de los precursores biosintéticos: glutamato y aspartato

En muchos casos, el esqueleto del carbono de un producto metabólico final puede rastrearse hasta sus orígenes biosintéticos. La glutamina, un ejemplo obvio, se deriva claramente del glutamato (figura 6-16). El esqueleto del glutamato en las estructuras de arginina y prolina (figura 6-16) es menos obvio pero fácilmente discernible. También el esqueleto de carbono del aspartato, obtenido de modo directo del metabolito focal oxaloacetato, es evidente en las estructuras de asparagina, treonina, metionina y pirimidinas (figura 6-17). En algunos casos, diferentes esqueletos de carbono se combinan en una

vía biosintética. Por ejemplo, el semialdehído del aspartato y el piruvato se combinan para formar el precursor metabólico de la lisina, el ácido diaminopimélico y el ácido dipicolínico (figura 6-18). Los últimos dos compuestos se encuentran sólo en procariotas. El ácido diaminopimélico es un componente del peptidoglucano en la pared celular, y el ácido dipicolínico constituye una porción importante de las endosporas.

Síntesis del peptidoglucano de la pared celular

La estructura del peptidoglucano se muestra en la figura 2-19; la vía por la cual se sintetiza se muestra de manera simplificada en la figura 6-19. La síntesis del peptidoglucano comienza con la síntesis progresiva en el citoplasma del áci-

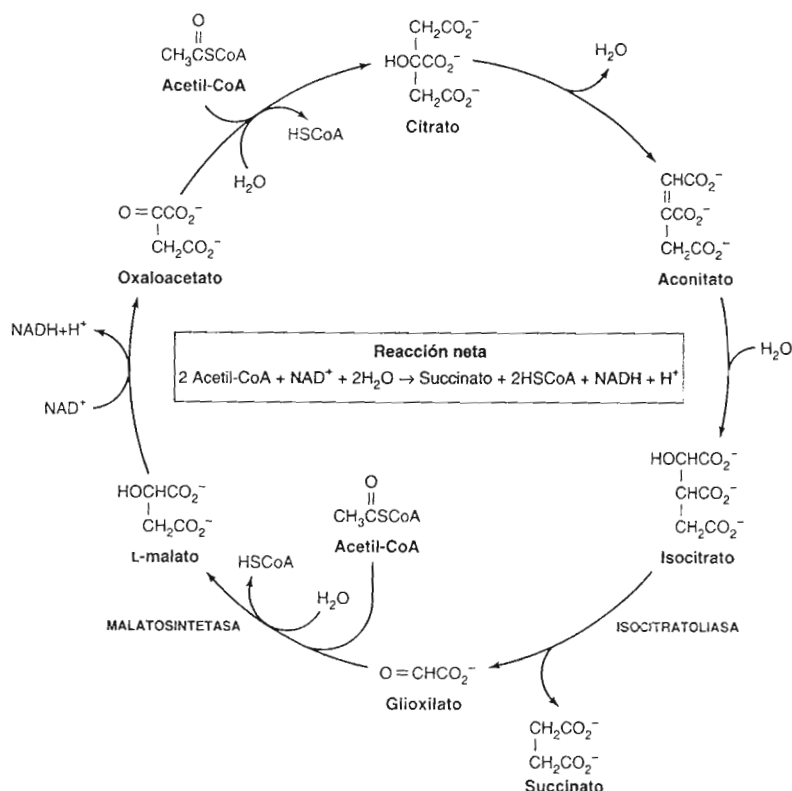


Figura 6-11. Ciclo del glioxilato. Obsérvese que este ciclo comparte con el ciclo del ácido tricarboxílico las reacciones que convierten al malato en isocitrato (figura 6-10). La divergencia metabólica a nivel del isocitrato y la acción de las dos enzimas, isocitratoliasa y malatosintetasa, modifican al ciclo del ácido tricarboxílico de modo que convierte de manera reductora a dos moléculas de acetil-CoA en succinato.

do pentapéptido UDP-*N*-acetilmurámico. Primero se adhiere la *N*-acetilglucosamina al UDP y luego se convierte al ácido UDP-*N*-acetilmurámico mediante la condensación con fosfoenolpiruvato y su reducción. Se agregan de manera secuencial los aminoácidos del pentapéptido, cada adición está catalizada por una enzima diferente y cada una requiere el desdoblamiento del ATP a ADP + P_i .

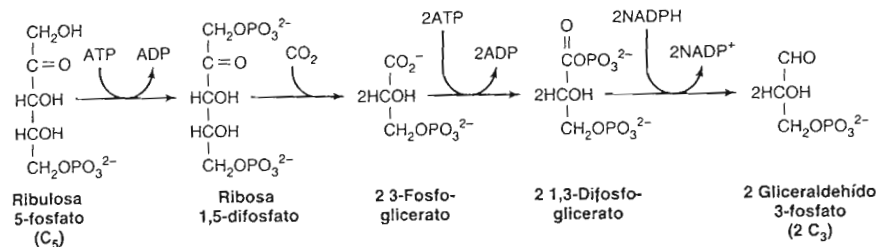
El ácido pentapéptido UDP-*N*-acetilmurámico se adhiere al bactoprenol (un lípido de la membrana celular) y recibe a una molécula de *N*-acetilglucosamina a partir del UDP. El derivado pentaglicina se forma a continuación en una serie de reacciones que utilizan glicil-tRNA como donador; el disacárido terminado se polimeriza a un intermediario oligomérico antes de transferirse al extremo en crecimiento de un polímero de glucopéptido en la pared celular.

El entrecruzamiento final se realiza por una reacción de transpeptidación, en la cual el grupo amino libre de una pentaglicina desplaza al residuo de *D*-alanina terminal de un pen-

tapéptido vecino. La transpeptidación se cataliza por un grupo de enzimas llamadas proteínas fijadoras de penicilina (PFP), las cuales enlazan penicilina y otros antibióticos β lactámicos de manera covalente, debido en parte a la similitud estructural entre estos antibióticos y los precursores pentapéptidos. Algunas PFP tienen actividades de transpeptidasa o de carboxipeptidasa, sus velocidades relativas quizá controlan el grado de entrecruzamiento en el peptidoglucano (un factor importante en la septación celular).

Esta vía biosintética es de particular importancia en la medicina, ya que proporciona la base para la acción antibacteriana selectiva de varios agentes quimioterapéuticos. A diferencia de sus células huésped, las bacterias no son isotónicas respecto de los líquidos corporales: contienen una gran presión osmótica y su viabilidad depende de que se mantenga la integridad de la malla de peptidoglucano en la pared celular a lo largo del ciclo de crecimiento. Cualquier compuesto que inhiba algún paso en la biosíntesis del peptidoglucano provo-

A



B

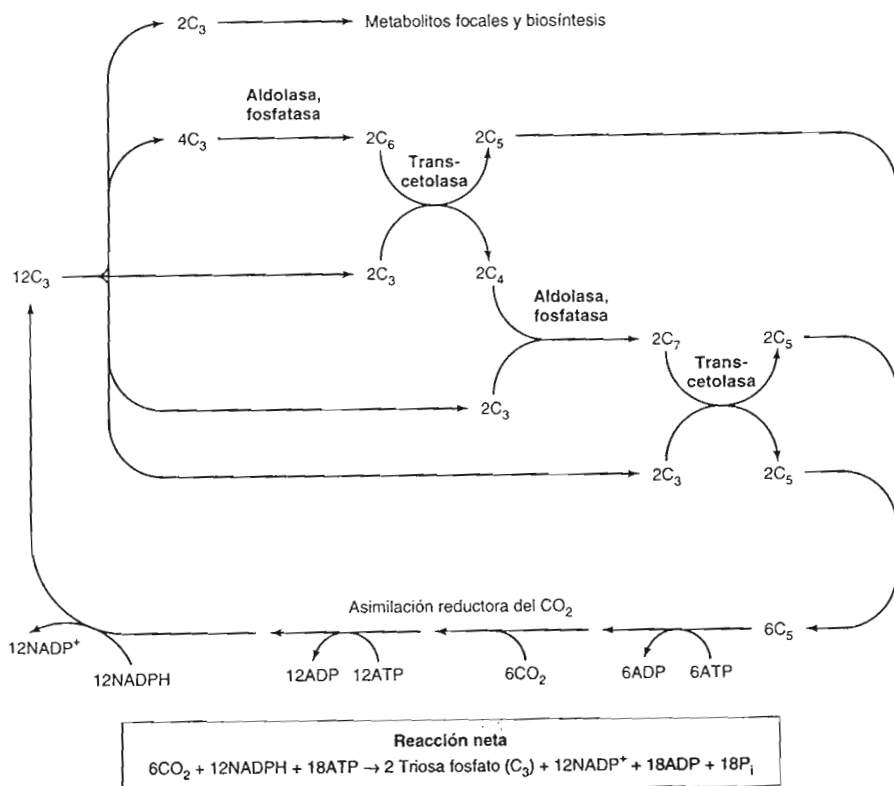


Figura 6-12. Ciclo de Calvin. **A:** Asimilación reductora del CO_2 . Se emplean ATP y NADPH para convertir de manera reductora a la pentosa 5-fosfato (C_5) en dos moléculas de triosa fosfato (C_3). **B:** El ciclo de Calvin se complementa mediante reacciones de redistribución de los carbohidratos (figura 6-5) que permiten la síntesis neta de carbohidratos y la regeneración del fosfato de pentosa, de modo que pueda proseguir el ciclo.

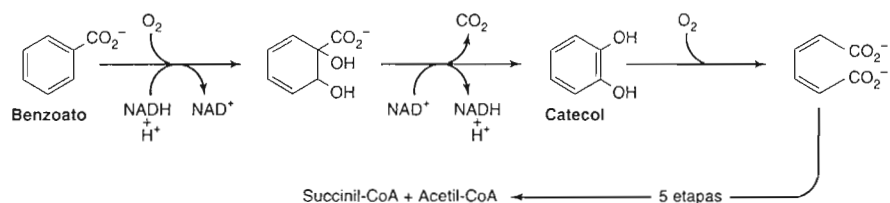


Figura 6-13. Función de las oxigenasas en la utilización aeróbica del benzoato como fuente de carbono. El oxígeno molecular participa de modo directo en las reacciones que alteran la aromaticidad del benzoato y del catecol.

ca que la pared de la célula bacteriana en crecimiento se debilita y que la célula se lise. Los sitios de acción de varios antibióticos se muestran en la figura 6-19.

Síntesis del lipopolisacárido de la cubierta celular

La estructura general del lipopolisacárido antigénico de la cubierta de las células gramnegativas se muestra en la figura 2-20. La biosíntesis del grupo terminal repetido, que le da a la cubierta celular su especificidad antigénica, se muestra en la figura 6-20. Nótese la semejanza con la síntesis del pepti-

doglucano: en ambos casos se ensamblan series de subunidades en un portador lipídico de la membrana y luego se transfieren hacia los extremos abiertos de la estructura polimérica en crecimiento.

Síntesis de los polímeros capsulares extracelulares

Los polímeros capsulares, de los cuales se encuentran algunos ejemplos en el cuadro 2-1, se sintetizan enzimáticamente a partir de subunidades activadas. En este proceso no se involucra a ningún portador lipídico enlazado a la membrana. La pre-

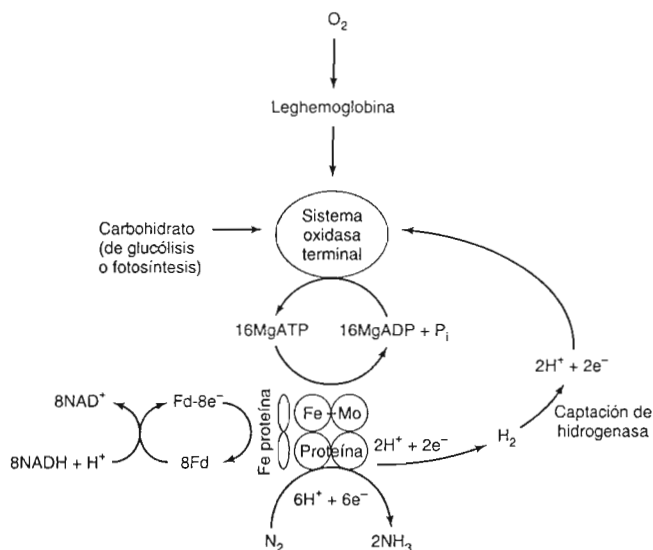
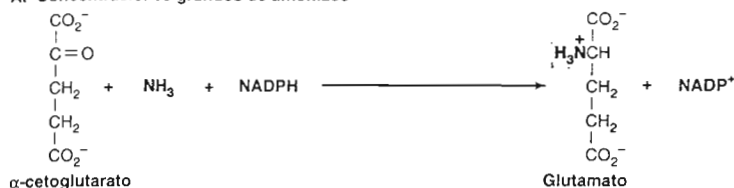


Figura 6-14. Reducción del N_2 a dos moléculas de NH_3 . Además del reductor, la reacción de la nitrogenasa requiere una cantidad importante de energía metabólica. El número de moléculas de ATP necesarias para la reducción de una sola molécula de nitrógeno a amoníaco no se conoce; al parecer el valor se encuentra entre 12 y 16. La reacción completa requiere $8\text{NADH} + \text{H}^+$. Seis de éstas se utilizan para reducir el N_2 a 2NH_3 y dos se utilizan para formar H_2 . La captación de hidrogenasa regresa al H_2 al sistema y de esta manera se conserva la energía. (Modificado y reproducido con autorización de Moat AG, Foster JW: *Microbial Physiology*, 3rd ed. Wiley-Liss, 1995. Por permiso de John Wiley & Sons, Inc.)

A. Concentraciones grandes de amoníaco



B. Concentraciones escasas de amoníaco

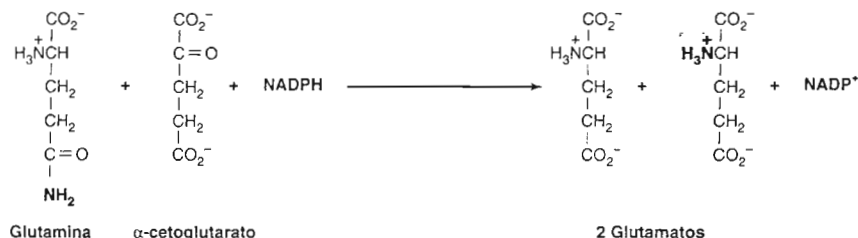
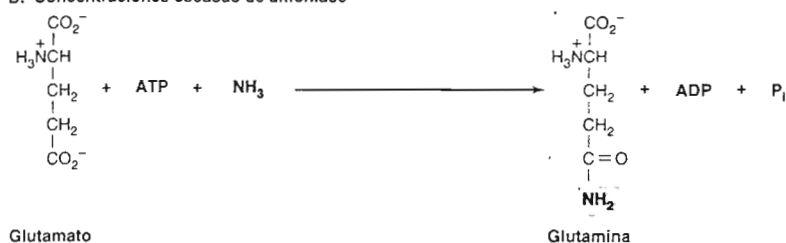


Figura 6-15. Mecanismos para la asimilación del NH_3 . **A:** Cuando es grande la concentración del NH_3 , las células son capaces de asimilar el compuesto por vía de la reacción de la glutamatodeshidrogenasa. **B:** Cuando, como suele suceder más a menudo, la concentración de NH_3 es baja, las células acoplan las reacciones de la glutaminosintetasa y la glutamatosintetasa, con objeto de dedicar a la asimilación del amoníaco la energía producida por la hidrólisis de un enlace de pirofosfato.

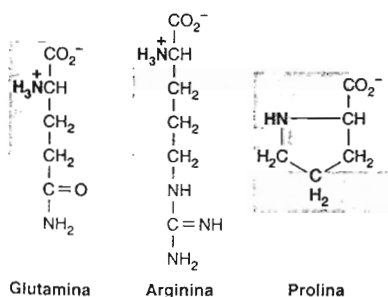


Figura 6-16. Aminoácidos formados a partir del glutamato.

sencia de una cápsula depende a menudo del ambiente: los dextranos y los levanos, por ejemplo, se pueden sintetizar sólo si se dispone del disacárido sacarosa (fructosa y glucosa) como fuente de la subunidad apropiada, y su síntesis depende, por tanto, de la presencia de sacarosa en el medio.

Síntesis de gránulos alimentarios de reserva

Cuando los nutrientes están presentes en mayor cantidad de la requerida para el crecimiento, las bacterias convierten a algunos de ellos en gránulos alimentarios intracelulares de reserva. Los principales son almidón, glucógeno, poli- β -hidroxibutirato (PBHB) y volutina, la cual consiste principalmente en polifosfato inorgánico. El tipo de gránulo formado es específico de la especie. Los gránulos se degradan cuando se agotan los nutrientes exógenos.

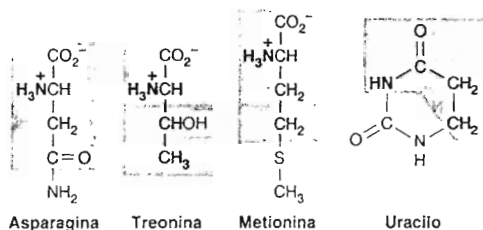


Figura 6-17. Productos biosintéticos terminales formados a partir del aspartato.

PATRONES DE METABOLISMO MICROBIANO PRODUCTOR DE ENERGÍA

Como se describe en el capítulo 5, existen dos mecanismos metabólicos principales para generar enlaces ácidos de pirofosfato abundantes en energía en el ATP: la fosforilación del sustrato (la transferencia directa al ADP de un enlace anhídrido de fosfato a partir de un donador orgánico) y la fosforilación del ADP mediante fosfato inorgánico. Esta última reacción es energéticamente desfavorable y debe ser impulsada por un gradiente electroquímico transmembranal, la fuerza motriz protónica. En la respiración, el gradiente electroquímico se crea a partir de un reductor y un oxidante obtenidos del medio externo. La energía liberada por la transferencia de electrones del reductor al oxidante a través de portadores de la membrana se acopla con la formación del gradiente electroquímico transmembranal. En la fotosíntesis, la energía lumínica genera reductores y oxidantes dependientes de la membrana; la fuerza motriz protónica se genera conforme estos portadores de electrones regresan a su estado basal. Estos procesos se discuten posteriormente.

sada por un gradiente electroquímico transmembranal, la fuerza motriz protónica. En la respiración, el gradiente electroquímico se crea a partir de un reductor y un oxidante obtenidos del medio externo. La energía liberada por la transferencia de electrones del reductor al oxidante a través de portadores de la membrana se acopla con la formación del gradiente electroquímico transmembranal. En la fotosíntesis, la energía lumínica genera reductores y oxidantes dependientes de la membrana; la fuerza motriz protónica se genera conforme estos portadores de electrones regresan a su estado basal. Estos procesos se discuten posteriormente.

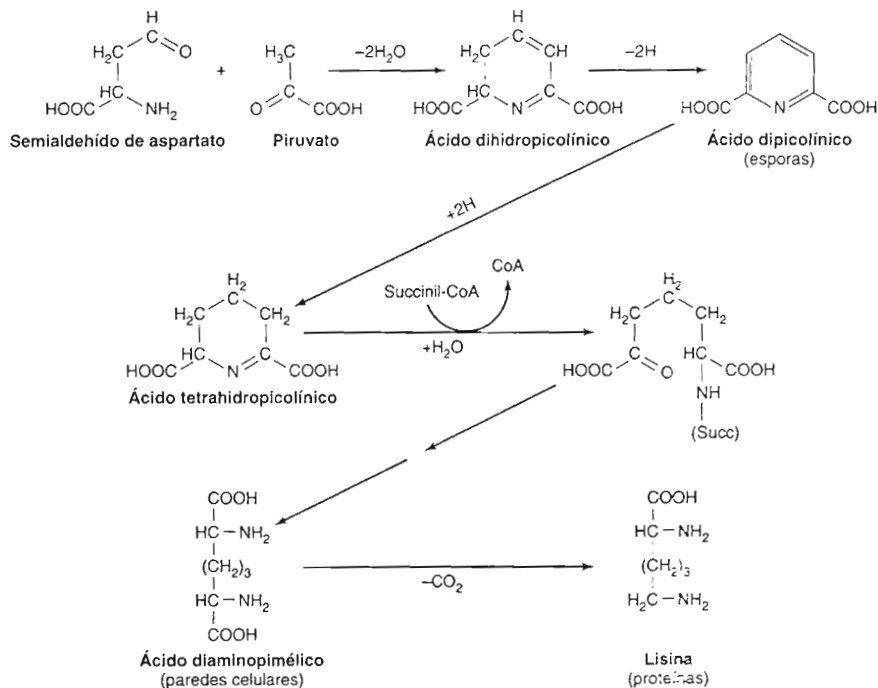


Figura 6-18. Productos biosintéticos terminales formados a partir del semialdehído de aspartato y del piruvato.

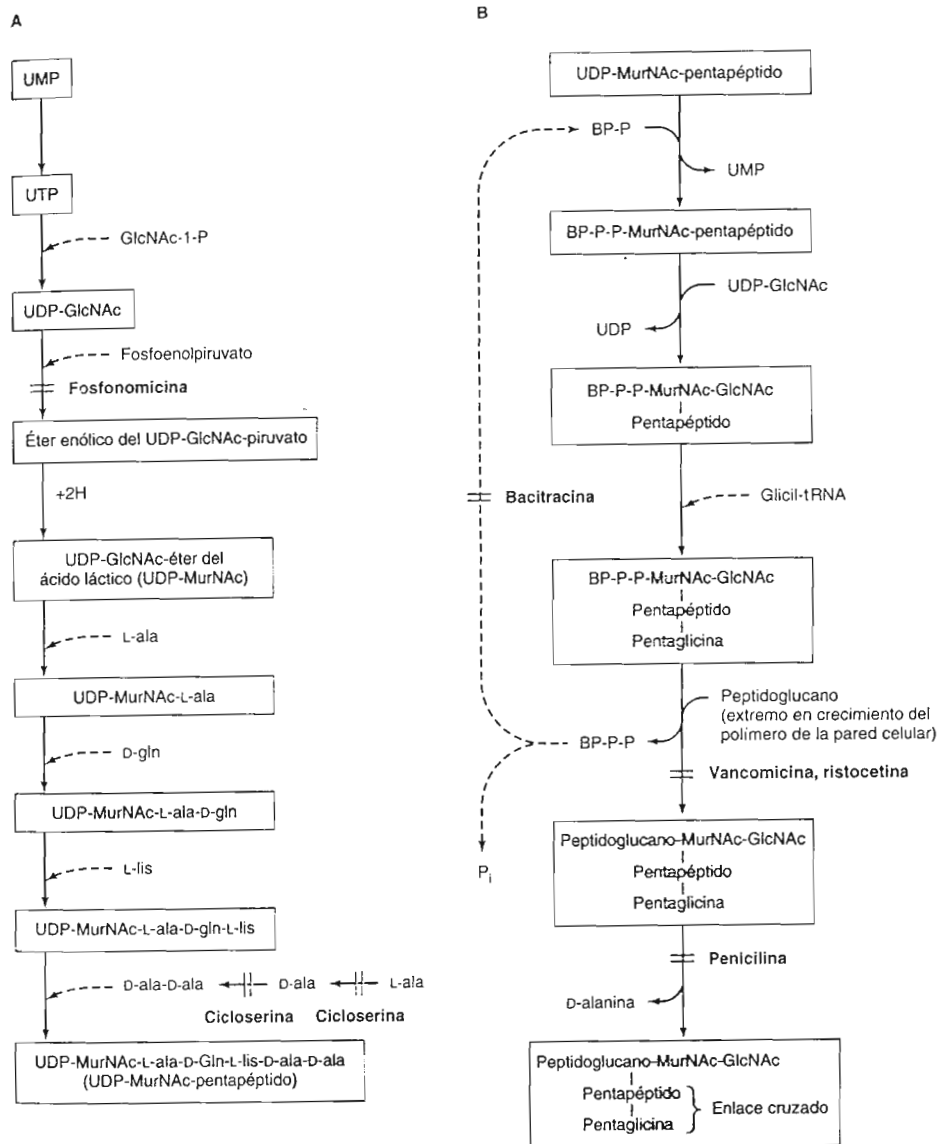


Figura 6-19. Biosíntesis del peptidoglucano de la pared celular, que muestra los sitios de acción de seis antibióticos. BP = bacto-prenol; MurNAc = Ácido *N*-acetilmurámico; GlcNAc = *N*-acetilglucosamina. A: Síntesis de ácido pentapéptido UDP-acetilmurámico. B: Síntesis del peptidoglucano a partir de ácido pentapéptido UDP-acetilmurámico, UDP-*N*-acetilglucosamina y residuos de glicilo (véase figura 2-19 para la estructura del peptidoglucano).

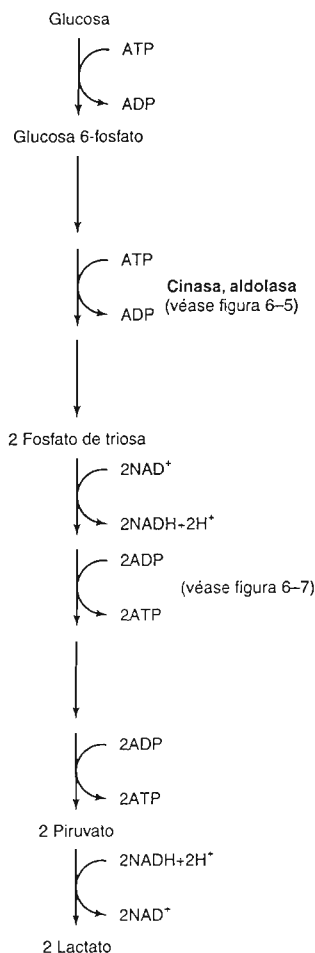


Figura 6-21. Vía de Embden-Meyerhof.

ridos para formar fosfato de triosa a partir de la glucosa, la vía de Embden-Meyerhof produce un resultado neto de dos enlaces de ATP pirofosfato. La formación de piruvato a partir del fosfato de triosa es un proceso oxidativo y el NADH formado en la primera etapa metabólica (figura 6-21) debe convertirse a NAD^+ para que continúe la fermentación: dos de los mecanismos más simples para lograr este objetivo se ilustran en la figura 6-22. La reducción directa del piruvato mediante el NADH produce lactato como producto final de la fermentación, lo que ocasiona la acidificación del medio. De manera alterna, el piruvato puede descarboxilarse a acetaldehído, el cual entonces se utiliza para oxidar al NADH y dar lugar al producto neutro etanol. La vía seleccionada está de-

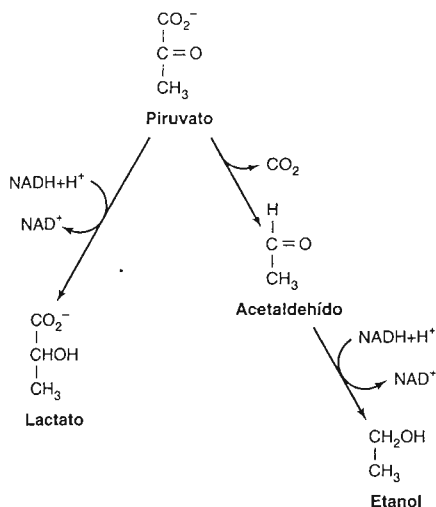


Figura 6-22. Dos mecanismos bioquímicos por los cuales el piruvato puede oxidar al NADH. **Izquierda:** formación directa de lactato, que resulta en la producción neta de ácido láctico a partir de la glucosa. **Derecha:** Formación de los productos neutros dióxido de carbono y etanol.

terminada por la historia evolutiva del microorganismo y en algunos de ellos por las condiciones del crecimiento.

D. Fermentaciones de Entner-Doudoroff y de heterolactato

Las vías alternas para la fermentación de la glucosa incluyen algunas reacciones enzimáticas especializadas, como las que se muestran en la figura 6-23. La vía de Entner-Doudoroff se diferencia de otras vías del metabolismo de los carbohidratos por una deshidratación del 6-fosfogluconato, seguida por una reacción de la aldolasa que produce piruvato y fosfato de triosa (figura 6-23A). La fermentación heteroláctica y algunas otras vías fermentadoras dependen de una reacción de fosfoacetolasa (figura 6-23B) que rompe por fosforilación a una cetosa-fosfato para producir acetilfosfato y fosfato de triosa. El ácido anhídrido acetilfosfato puede utilizarse para la síntesis de ATP o puede permitir la oxidación de dos moléculas de NADH a NAD^+ conforme se reduce a etanol.

El esquema general de las vías de Entner-Doudoroff y del heterolactato se muestran en las figuras 6-24 y 6-25. Las vías producen una sola molécula de fosfato de triosa a partir de glucosa y la producción correspondiente de energía es baja: a diferencia de la vía de Embden-Meyerhof, las vías de Entner-Doudoroff y la del heterolactato producen solamente una fosforilación neta de sustrato de ADP por cada molécula de glucosa fermentada. ¿Por qué se han seleccionado las vías alternas para la fermentación de la glucosa en el ambiente natural? Para responder esta pregunta deben tenerse en mente dos hechos. Primero, en la competencia directa por el crecimiento

entre dos especies microbianas, la tasa de utilización del sustrato puede ser más importante que la cantidad de crecimiento. En segundo lugar, la glucosa es sólo uno de los muchos carbohidratos encontrados por los microorganismos en su ambiente natural. Las pentosas, por ejemplo, pueden fermentarse de manera muy eficiente por la vía del heterolactato.

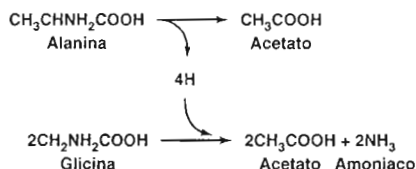
E. Variaciones adicionales en la fermentación de los carbohidratos

Las vías para la fermentación de los carbohidratos pueden acomodar a muchos más sustratos que los aquí descritos, y los productos finales pueden ser más diversos que los sugeridos hasta ahora. Por ejemplo, existen numerosos mecanismos para la oxidación del NADH a expensas del piruvato. Uno de estos mecanismos es la formación reductiva del succinato. Muchas bacterias clínicamente significativas forman piruvato a partir de glucosa por la vía de Embden-Meyerhof y se les puede diferenciar sobre la base de los productos de reducción formados a partir del piruvato, lo cual refleja la constitución enzimática de las diferentes especies. Los principales productos de la fermentación, listados en el cuadro 6-1, forman la base para muchas pruebas diagnósticas.

F. Fermentación de otros sustratos

Los carbohidratos no son los únicos sustratos fermentables. El metabolismo de aminoácidos, purinas y pirimidinas pue-

de permitir que ocurra la fosforilación del sustrato. Por ejemplo, la arginina puede servir como una fuente de energía para dar lugar al fosfato de carbamoilo, que puede utilizarse para fosforilar ADP a ATP. Algunos microorganismos fermentan pares de aminoácidos al utilizar uno como donador de electrones y otro como aceptor:



Patrones de respiración

La respiración requiere una membrana cerrada. En las bacterias, ésta es la membrana celular. Los electrones pasan de un reductor químico a un oxidante químico a través de un grupo específico de portadores de electrones dentro de la membrana, y como resultado se establece la fuerza motriz protónica (figura 6-26); el regreso de los protones a través de la membrana se acopla a la síntesis del ATP. Como se sugiere en la

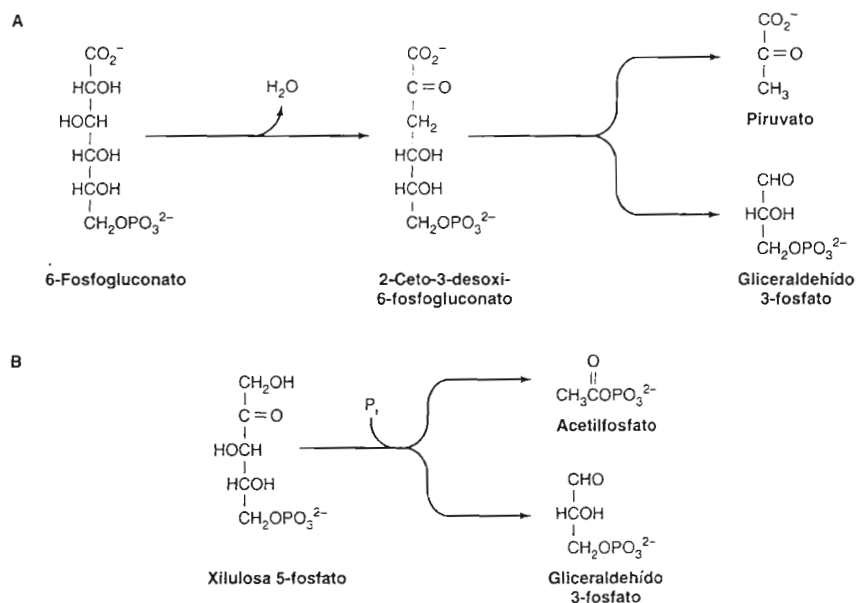


Figura 6-23. Reacciones relacionadas con las vías específicas de la fermentación de los carbohidratos. **A:** Reacciones de la deshidratasa y de la aldolasa que participan en la vía de Entner-Doudoroff. **B:** La reacción de la fosfoacetolasa. Ésta se encuentra en varias vías de la fermentación de los carbohidratos y genera el ácido mixto anhídrido acetilfosfato, que puede usarse para la fosforilación del sustrato de ADP.

Cuadro 6-1. Fermentaciones microbianas basadas en la vía de Embden-Meyerhof

Fermentación	Microorganismos	Productos
Etanol	Algunos hongos (de manera notable algunas levaduras)	Etanol, CO_2
Lactato (homofermentación)	<i>Streptococcus</i> Algunas especies de <i>Lactobacillus</i>	Lactato (constituye por lo menos 90% de la fuente energética de carbono)
Lactato (heterofermentación)	<i>Enterobacter</i> <i>Aeromonas</i> <i>Bacillus polymyxa</i>	Etanol, acetoina, 2-3-butilenglicol, CO_2 , lactato, acetato, formiato. (Total de ácidos = 21 mol*)
Propionato	<i>Clostridium propionicum</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Corynebacterium diphtheriae</i> Algunas especies de: <i>Neisseria</i> <i>Veillonella</i> <i>Micromonospora</i>	Propionato, acetato, succinato, CO_2
Ácidos mixtos	<i>Escherichia</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> , <i>Proteus</i>	Lactato, acetato, formiato, succinato, H_2 , CO_2 , etanol. (Total de ácidos = 159 mol*)
Butanolbutirato	<i>Butyrobacterium</i> <i>Zymosarcina maxima</i> Algunas especies de <i>Clostridium</i>	Butanol, butirato, acetona, isopropanol, acetato, etanol, H_2 , CO_2

* Por 100 mol de glucosa fermentada.

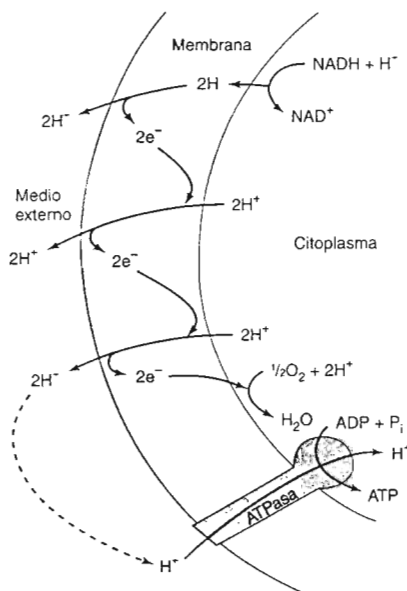


Figura 6-26. Acoplamiento del transporte de electrones en la respiración para la generación de ATP. Los movimientos indicados de protones y electrones se encuentran mediados por portadores (flavoproteínas, quinonas, citocromos) asociados con la membrana. El flujo de electrones por abajo de su gradiente electroquímico, por medio de la ATPasa de la membrana, proporciona la energía para la generación de ATP a partir del ADP y P_i . Véase el texto para la explicación. (Según Harold FM: Chemiosmotic interpretation of active transport in bacteria. Ann NY Acad Sci 1974;227:297.)

carbono. El metabolismo respiratorio dependiente del dióxido de carbono como un aceptor de electrones es una propiedad que se encuentra entre representantes de un gran grupo microbiano, las arqueobacterias. Los representantes de este grupo poseen, por ejemplo, la capacidad para reducir dióxido de carbono a acetato como un mecanismo para generar energía metabólica.

Fotosíntesis bacteriana

Los organismos fotosintéticos utilizan energía lumínica para separar la carga electrónica, con objeto de crear reductores y oxidantes asociados con la membrana como resultado de un evento fotoquímico. La transferencia de electrones desde el reductor hasta el oxidante crea una fuente motriz protónica. Muchas bacterias realizan un metabolismo fotosintético completamente independiente del oxígeno. La luz se utiliza como una fuente de energía metabólica y el carbono para el crecimiento se obtiene de compuestos orgánicos o de una combinación de un reductor inorgánico (p. ej., tiosulfatos) y el dióxido de carbono. Estas bacterias poseen un solo fotosistema que, aunque es suficiente para proporcionar energía para la síntesis del ATP y para la generación de gradientes iónicos transmembranales esenciales, no permite la muy exergónica reducción del NADP⁺ a expensas del agua. Este proceso esencial para la fotosíntesis dependiente de oxígeno se apoya en energía adicional derivada del acoplamiento de dos eventos fotoquímicos distintos, impulsados por dos sistemas fotoquímicos independientes. Entre las procariotas, este rasgo se encuentra sólo en las cianobacterias (bacterias azul verdes). Entre los organismos eucariotas, esta característica la comparten las algas y las plantas, en las cuales los organelos productores de energía son los cloroplastos.

REGULACIÓN DE LAS VÍAS METABÓLICAS

En su ambiente normal, las células microbianas suelen regular sus vías metabólicas, por lo que no se producen intermediarios en exceso. Cada reacción metabólica está regulada no sólo respecto de las otras en la célula, sino también respecto de las concentraciones de nutrientes en el ambiente. De esta manera, cuando una fuente de carbono esporádica súbitamente se vuelve abundante, la enzima requerida para su metabolismo se incrementa tanto en cantidad como en actividad; por el contrario, cuando un elemento constitutivo (como un aminoácido) súbitamente se vuelve abundante, las enzimas requeridas para su biosíntesis disminuyen en cantidad y en actividad.

La regulación de la actividad y de la síntesis enzimáticas proporciona tanto un control fino como un control burdo de las vías metabólicas. Por ejemplo, la inhibición de la actividad de una enzima por un producto final de una vía constituye un mecanismo de control fino, puesto que el flujo de carbono a través de esa vía se regula de manera instantánea y con precisión. La inhibición de la síntesis enzimática por el mismo producto final, por otra parte, constituye un mecanismo de control burdo. Las moléculas preexistentes de la enzi-

ma continúan funcionando hasta que se diluyen por el desarrollo celular subsiguiente, aunque la síntesis innecesaria de proteínas cesa de inmediato.

Los mecanismos mediante los cuales la célula regula la actividad enzimática se comentan en la siguiente sección. La regulación de la síntesis enzimática se presenta en el capítulo 7.

Regulación de la actividad enzimática

A. Enzimas como proteínas alostéricas

En muchos casos, la actividad de una enzima que cataliza un paso inicial en la vía metabólica se inhibe por el producto final de esa vía. Esta inhibición no depende de la competencia por el sitio de unión del sustrato con la enzima, porque las estructuras del producto final y del intermediario inicial (sustrato) generalmente son muy diferentes. En su lugar, la inhibición depende del hecho de que las enzimas reguladas son alostéricas; cada enzima posee no solamente un sitio catalítico que la une con el sustrato, sino también uno o más sitios que enlazan pequeñas moléculas reguladoras o efectores. La unión de un efector a su sitio produce un cambio de conformación en la enzima, con lo que se reduce la afinidad del sitio catalítico por el sustrato (inhibición alostérica), o bien se incrementa (activación alostérica).

Por lo general, las proteínas alostéricas son oligoméricas. En algunos casos, las subunidades son idénticas y cada subunidad posee tanto un sitio catalítico como uno efector; en otros casos, las subunidades son diferentes, un tipo posee sólo un sitio catalítico y el otro sólo uno efector.

B. Inhibición por retroalimentación

Los mecanismos generales desarrollados en los microorganismos para regular el flujo del carbono a través de las vías biosintéticas es más eficiente de lo que uno se puede imaginar. En cada caso el producto final inhibe alostéricamente la actividad de la primera, y solamente a la primera, enzima de la vía. Por ejemplo, el primer paso en la biosíntesis de la isoleucina que no involucra ninguna otra vía, es la conversión de la L-treonina a ácido α -cetobutírico catalizada por la treonina desaminasa. Esta enzima está inhibida alostéricamente y de manera muy específica por la L-isoleucina y por ningún otro compuesto (figura 6-27); las otras cuatro enzimas de la vía no se afectan (aunque su síntesis está reprimida).

C. Activación alostérica

En algunos casos es ventajoso para la célula que un producto terminal o un intermediario activen, más que inhiban, a una enzima particular. Por ejemplo, en el desdoblamiento de la glucosa por *E. coli*, la sobreproducción de los intermediarios glucosa 6-fosfato y fosfoenolpiruvato dispara la derivación de una parte de la glucosa a la vía de la síntesis de glucógeno; esto se realiza por la activación alostérica de la enzima que convierte a la glucosa 1-fosfato en ADP-glucosa (figura 6-28).

D. Cooperativismo

Muchas enzimas oligoméricas, que poseen más de un sitio de unión con el sustrato, muestran interacciones cooperado-

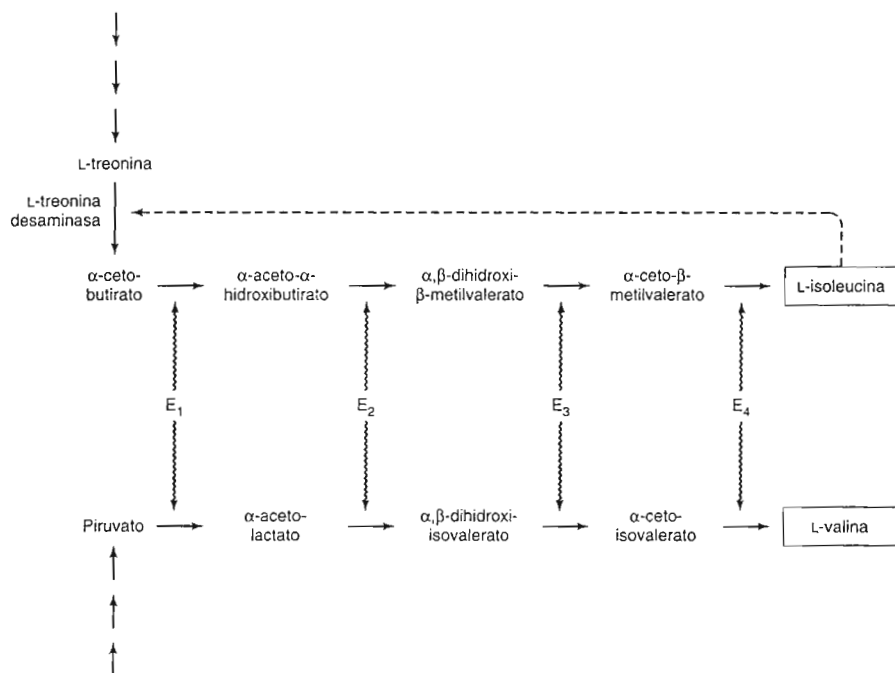


Figura 6-27. Inhibición mediante retroalimentación de la L-treonina desaminasa por parte de la L-isoleucina (línea punteada). Las vías para la biosíntesis de la isoleucina y de la valina están mediadas por un conjunto común de cuatro enzimas, según se muestra.

ras de moléculas de sustrato. La unión del sustrato con un sitio catalítico incrementa la afinidad de los otros sitios por moléculas adicionales de sustrato. El efecto neto de esta interacción es producir un incremento exponencial en la actividad catalítica en respuesta a un incremento aritmético en la concentración del sustrato.

E. Modificación covalente de enzimas

Las propiedades reguladoras de algunas enzimas se alteran por la modificación covalente de la proteína. Por ejemplo, la respuesta de la glutamino sintetasa a los efectores metabólicos está alterada por la adenilación. La adhesión covalente del ADP a una cadena lateral específica de tirosilo dentro de cada subunidad de la enzima. Las enzimas que controlan la adenilación también están controladas por modificación covalente. La actividad de otras enzimas se altera por su fosforilación.

F. Inactivación de la enzima

La actividad de algunas enzimas se pierde por su hidrólisis. Este proceso puede regularse, y a veces iniciarse, por la modificación covalente de la enzima blanco que se requiere eliminar.

Preguntas de revisión

1. ¿La síntesis de cuál de los siguientes componentes celulares depende de una plantilla?
 - A. Lipopolisacáridos
 - B. Peptidoglucano
 - C. Polisacárido capsular
 - D. Ácido desoxirribonucleico
 - E. Fosfolípidos
2. ¿La síntesis de cuál de los siguientes componentes celulares está completamente determinada por especificaciones enzimáticas?
 - A. DNA
 - B. RNA ribosomal
 - C. Flagelos
 - D. Lipopolisacárido
 - E. Proteína
3. Los pasos que conducen a la síntesis de peptidoglucano ocurren en el citoplasma, sobre la membrana citoplásmica y extracelularmente. ¿Qué antibiótico inhibe un paso extracelular de la biosíntesis de peptidoglucano?
 - A. Cicloserina
 - B. Rifampicina
 - C. Penicilina

Figura
(Según

D.
E.
4. Lo
tid
sig
do
A.
B.
C.
D.
E.

REF

Libro

Atlas

Hurst

Maier

Moat

Neidha

C

p

Articu

Gibson

u

Genética microbiana

La ciencia de la **genética** define y analiza a la **herencia**, o la constancia y el cambio en la vasta riqueza de funciones fisiológicas que constituyen las propiedades de los organismos. La unidad de la herencia es el **gen**, un segmento del DNA que lleva información en su secuencia de nucleótidos para una propiedad bioquímica o fisiológica específica. El enfoque tradicional de la herencia ha sido identificar a los genes con base en su contribución al **fenotipo**; es decir, a las propiedades estructurales y fisiológicas colectivas de una célula o de un organismo. Una propiedad fenotípica (ya sea el color de los ojos en el humano o la resistencia a los antibióticos en una bacteria) suele observarse a nivel de microorganismo. La base química para la variación en el fenotipo es un cambio en el **genotipo**; es decir, la alteración en la secuencia del DNA dentro de un gen o en la organización de los genes.

La genética microbiana tradicional se apoya en gran parte en la observación del crecimiento. La variación fenotípica se ha estudiado con base en la capacidad del gen para permitir el crecimiento en condiciones de **selección**; por ejemplo, una bacteria que contiene un gen que le confiere resistencia a la ampicilina puede diferenciarse de una bacteria que no lo tenga por su crecimiento en presencia del antibiótico, el cual sirve como un agente de selección. Nótese que la selección del gen requiere su **expresión**, que bajo condiciones apropiadas se puede observar a nivel de fenotipo.

La genética microbiana ha descubierto que los genes están constituidos por DNA, una observación que puso las bases de la biología molecular. Investigaciones posteriores en las bacterias revelaron la presencia de **enzimas de restricción**, que cortan al DNA en sitios específicos y dan lugar a **fragmentos de restricción** del DNA. Los **plásmidos** se identificaron como pequeños elementos genéticos capaces de replicación independiente en las bacterias y en las levaduras. La introducción de un fragmento de restricción del DNA en un plásmido permite que el fragmento se amplifique muchas veces. La amplificación de regiones específicas del DNA también se logra utilizando enzimas bacterianas mediante la **reacción en cadena de la polimerasa (PCR)** u otros métodos enzimáticos de amplificación del ácido nucleico (p. ej., amplificación mediada por transcripción). El DNA insertado en plásmidos con dichas regiones se puede someter al control de **promotores** bacterianos de alta expresión que permiten que las proteínas codificadas se expresen de manera elevada. Así, la genética bacteriana favoreció el

desarrollo de la **ingeniería genética**, tecnología que ha introducido grandes avances en el campo de la medicina.

ORGANIZACIÓN DE LOS GENES

La estructura del DNA y del RNA

La información genética se almacena como una secuencia de bases en el **ácido desoxirribonucleico (DNA)**. (En bacteriófagos con RNA [p. ej., Q β MS2] y algunos virus con RNA [p. ej., influenza y reovirus], la información genética se almacena como una secuencia de bases en el **ácido ribonucleico (RNA)**. Véase el capítulo 29). La mayor parte de las moléculas de DNA es de doble cadena, con **bases complementarias** (A-T, G-C) pareadas por enlaces de hidrógeno en el centro de la molécula (figura 7-1). La complementariedad de las bases le permite a una cadena (**cadena molde**) proporcionar la información para el copiado o expresión de la información en la otra cadena (**cadena codificadora**; figura 7-2). Los pares de bases están apilados en el centro de la doble hélice de DNA (figura 7-2) y ellos determinan la información genética. Cada una de las cuatro bases está unida con una fosfo-2'-desoxirribosa para formar un **nucleótido**. La columna vertebral del DNA, el fosfodiéster cargado negativamente, se orienta hacia el solvente y la repulsión de cargas contribuye a la estructura más o menos lineal que adquiere la molécula en largos segmentos. La longitud de una molécula de DNA se expresa comúnmente en miles de pares de bases o **kilopares de bases (kpb)**. Un virus pequeño puede contener una sola molécula de 5 kpb, en tanto que la molécula única de DNA que forma el cromosoma de la *Escherichia coli* tiene alrededor de 4 639 kpb. Cada par de bases está separado del siguiente por cerca de 0.34 nm o 3.4×10^{-7} mm, por lo que la longitud total del cromosoma de *E. coli* es aproximadamente de 1 mm. Como las dimensiones totales de la célula bacteriana son mil veces más pequeñas que esta medida, es obvio que un gran plegamiento o **superenrollamiento** de la molécula contribuye a su estructura física *in vivo*.

El RNA se encuentra con más frecuencia en forma de una sola cadena. La base uracilo (U) tiene en el RNA la función de hibridación que corresponde a la timina (T) en el DNA, por lo que la complementariedad de bases que determina la estructura del RNA es A-U y C-G. La estructura global de las moléculas de RNA de cadena única está deter-

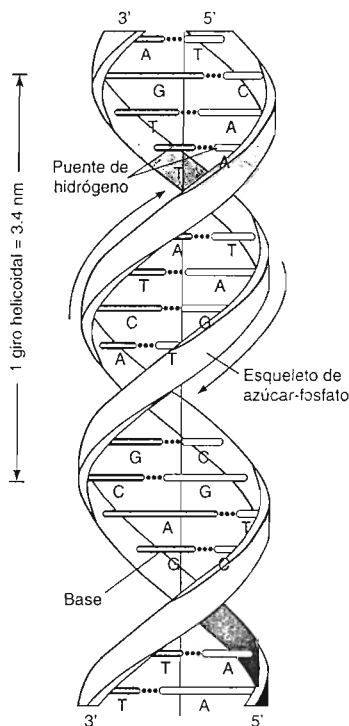


Figura 7-1. Esquema de la estructura del DNA de Watson-Crick, donde se muestra el esqueleto helicoidal de azúcar-fosfato de las dos cadenas enlazadas mediante puentes de hidrógeno entre las bases. (Redibujado de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, 1997.)

minada por la hibridación entre secuencias de bases que forman asas o círculos, con lo cual las moléculas de RNA de cadena única adquieren una estructura compacta capaz de expresar la información genética contenida en el DNA.

Algunas moléculas de RNA han mostrado que funcionan como enzimas (ribozimas). La función más general del RNA es la comunicación a los ribosomas de las secuencias de los genes del DNA, en la forma de RNA mensajero (mRNA). Los ribosomas, los cuales contienen RNA ribosomal (rRNA) y proteínas, traducen este mensaje a la estructura primaria de proteínas a través de la vía del aminocil RNA de transferencia (tRNA). Las moléculas del RNA varían en tamaño desde los tRNA pequeños, que contienen menos de 100 bases, hasta los mRNA, que tienen información genética que ocupa varios miles de bases. Los ribosomas bacterianos contienen tres tipos de rRNA, cuyos tamaños respectivos son de 120, 1 540 y 2 900 bases, así como varias proteínas (figura 7-3). Las contrapartes de estas moléculas de rRNA en los ribosomas eucarióticos son algo más gran-

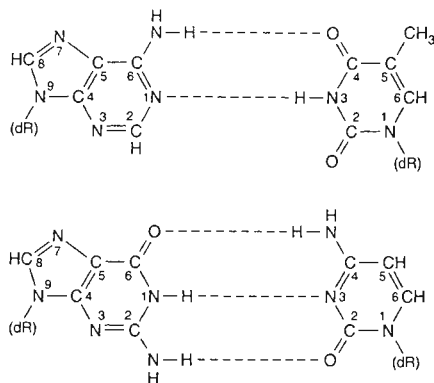


Figura 7-2. Hibridación normal de bases en el DNA. Los puentes de hidrógeno se indican con líneas punteadas (dR = desoxirribosa del esqueleto azúcar-fosfato del DNA). **Arriba:** Par adenina-timina. **Abajo:** par guanina-citosina.

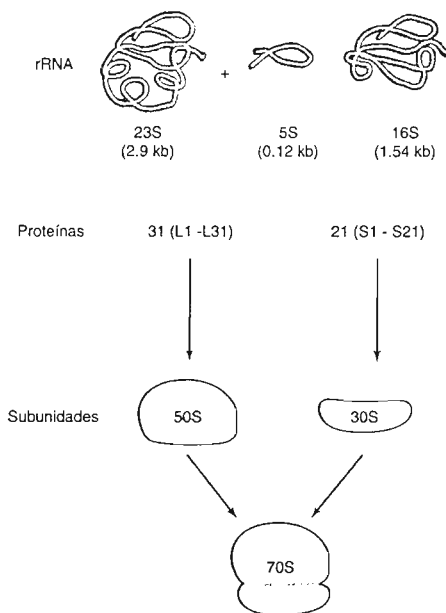


Figura 7-3. Composición de un ribosoma que contiene una copia de cada molécula de RNA 16S, 23S y 5S, así como muchas proteínas. Las proteínas de la gran subunidad 50S se designan L1 a L31. Las proteínas de la subunidad pequeña 30S se designan S1 a S21. (Redibujado de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, 1997.)

des. La
bia en
una ex
cambio
parte, l
teínas
bles y
de una

Geno

El geno
organism
en dos
dentro
diploid
pías eve
nes, o c
diploid
pensa l
que no
mólogo
to de s
mutaci
lutas ha
de los g
se in
en el es

La
algunos
ganelos
algunos
en partic
ciados
cromoso
mento g
unos 6.
pequeñ
encuent
pequeñ
manipul
su intro
lizan a

El
tidades
vez más
eucariot
regiones
nes extra
del inglés
das en t
quienes
en todo
bien doc
longitud
error dur
además,
tación d
interm
cias de L

des. La necesidad de expresión de genes individuales cambia en respuesta a la demanda fisiológica, y la exigencia de una expresión genética flexible se refleja en el rápido recambio metabólico de la mayor parte de los mRNA. Por otra parte, los tRNA y los rRNA asociados con la síntesis de proteínas (función requerida universalmente) tienden a ser estables y en conjunto, representan más de 95% del total de RNA de una célula bacteriana.

Genoma eucarionte

El **genoma** es la totalidad de la información genética en un organismo. Casi todo el genoma eucariótico está contenido en dos o más cromosomas lineales separados del citoplasma dentro de la membrana del núcleo. Las células eucariontes diploides contienen dos **homólogos** de cada cromosoma (copias evolutivas divergentes). Con frecuencia, las **mutaciones**, o cambios genéticos, no pueden detectarse en las células diploides porque la contribución de una copia de un gen compensa los cambios en la función de su homólogo. Un gen que no logra su expresión fenotípica en presencia de su homólogo es **recesivo**, mientras que un gen que supera el efecto de su homólogo es **dominante**. Los efectos de las mutaciones pueden discernirse con más facilidad en las células **haploides**, que sólo tienen una copia de la mayor parte de los genes. Las levaduras (que son eucariontes) suelen usarse en investigación porque pueden mantenerse y analizarse en el estado haploide.

Las células eucariontes contienen mitocondrias y, en algunos casos, cloroplastos. Dentro de cada uno de estos organelos existe una molécula circular de DNA que contiene algunos genes cuya función se relaciona con ese organelo en particular. Sin embargo, la mayor parte de los genes asociados con la función de los organelos se encuentra en los cromosomas eucariontes. Muchas levaduras contienen un elemento genético adicional, un círculo de 2 µm de DNA con unos 6.3 kpb, que se replica de manera independiente. Estos pequeños círculos de DNA, denominados **plásmidos**, se encuentran frecuentemente en los procariontes. El tamaño pequeño de los plásmidos hace a éstos adecuados para la manipulación genética y, después de su alteración, permite su introducción en las células. Por ello, los plásmidos se utilizan a menudo en ingeniería genética.

El **DNA repetitivo**, el cual se encuentra en grandes cantidades en las células eucariontes, también se identifica cada vez más en microorganismos procariontes. En los genomas eucariontes, el DNA repetitivo pocas veces se relaciona con regiones codificadoras y se localiza principalmente en regiones extragénicas. Estas repeticiones de secuencias cortas (SSR, del inglés *short-sequence repeats*) o secuencias cortas repetidas en tándem (STR, del inglés *short tandemly repeated sequences*) aparecen en varias de las miles de copias dispersas en todo el genoma. La presencia de SSR procariontes ya está bien documentada y algunas muestran polimorfismos de gran longitud; se piensa que esta variabilidad es causada por un error durante el apareamiento de las cadenas deslizantes y es, además, un prerrequisito importante para la variación y adaptación de la fase bacteriana. Muchos genes eucariontes son interrumpidos por **intrones**, los cuales intervienen las secuencias de DNA que se encuentran faltantes en el mRNA que se

traduce. Se han identificado intrones en genes de arqueobacterias; pero, con muy pocas excepciones, no se encuentran normalmente en eubacterias (cuadro 3-3).

Genoma procarionte

La mayor parte de los genes procariontes es transportado en el cromosoma bacteriano. Los datos disponibles respecto de la secuencia del genoma indican que la mayoría de los genomas procariontes consiste en una molécula única de DNA circular que contienen desde 580 hasta más de 4 600 kbp de DNA (cuadro 7-1). Muchas bacterias contienen genes adicionales en los plásmidos, que varían en tamaño desde algunos hasta 100 kpb. Los círculos del DNA (cromosoma y plásmido) que contienen información genética necesaria para su propia replicación se llaman **replícones**. Las membranas no separan a los genes bacterianos del citoplasma como sucede en los eucariontes. Con algunas excepciones, los genes bacterianos son haploides.

Cuadro 7-1. Comparación de tamaños de genomas de procariontes, bacteriófagos y virus seleccionados.

	Organismo	Tamaño (kpb)
Procariontes		
	Arqueobacterias	
	<i>Methanococcus jannaschii</i>	1 660
	<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2 180
Eubacterias	<i>Micoplasma genitalium</i>	580
	<i>Micoplasma pneumoniae</i>	820
	<i>Borrelia burgdorferi</i>	910
	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 040
	<i>Rickettsia prowazekii</i>	1 110
	<i>Treponema pallidum</i>	1 140
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1 230
	<i>Helicobacter pylori</i>	1 670
	<i>Haemophilus influenzae</i>	1 830
	<i>Neisseria meningitidis</i> pseudo grupo A	2 180
	<i>Neisseria meningitidis</i> pseudo grupo B	2 270
	<i>Bacillus subtilis</i>	4 210
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4 410
Bacteriófagos	<i>Escherichia coli</i>	4 640
	Lambda	48
Virus	Viruela	186
	Vaccinia	192
	Citomegalovirus	229

Algunas especies bacterianas pueden invadir organismos más grandes debido a que poseen genes específicos para determinantes patogénicos. Estos genes, frecuentemente, se agrupan juntos en el DNA y son señalados como **islas de patogenicidad**. Estos bloques genéticos pueden ser muy largos (de hasta 200 Kpb), y pueden codificar para la virulencia de muchos genes. Las islas de patogenicidad contienen diversos genes importantes para la patogénesis —entre ellos, las adhesinas, las invasinas y las exotoxinas—, así como aquellos que probablemente están involucrados con la movilización.

Los genes esenciales para el crecimiento bacteriano se encuentran en el cromosoma y los plásmidos portan genes vinculados con funciones especializadas (cuadro 7-2). Muchos plásmidos llevan genes que median su transferencia de un organismo a otro, así como otros genes vinculados con la adquisición o el reacomodo del DNA. Por consiguiente, genes con orígenes evolutivos independientes pueden asimilarse por plásmidos que están esparcidos entre la población bacteriana. Una consecuencia de estos eventos genéticos se ha observado en la rápida diseminación, de la resistencia bacteriana a los antibióticos transmitida por plásmidos, después del uso liberal de aquéllos en los hospitales.

Los **transposones** son elementos genéticos que pueden contener varios kpb de DNA, incluida la información necesaria para su migración de un *locus* genético a otro. Al conducirse de esta manera, los transposones crean mutaciones por inserción. La participación de transposones relativamente cortos (750 a 2000 bp de longitud), conocidos como **elementos de inserción**, producen la mayor parte de las mutaciones por inserción. Tales elementos (también conocidos como elementos de secuencia de inserción [IS]) acarrean únicamente los genes codificadores de las enzimas necesarias para promover su propia transposición. Casi todas las bacterias acarrean elementos IS, de tal manera que cada especie alberga y conserva sus propias características. A veces se logran identificar ele-

mentos IS relacionados entre sí correspondientes a bacterias diferentes. Los plásmidos también son portadores de elementos IS, los cuales son importantes para la formación de cadenas recombinantes de alta frecuencia (Hfr) (véase después). Los transposones complejos portan genes para funciones especializadas, como la resistencia a antibióticos y están flanqueados por secuencias de inserción. A diferencia de los plásmidos, los transposones no contienen la información genética necesaria para su propia replicación. La selección de los transposones depende de su replicación como parte de un replicón. La detección o explotación genética de los transposones se logra mediante la selección de la información genética especializada (normalmente resistencia a los antibióticos) que poseen.

Genoma viral

Los virus son capaces de sobrevivir, pero no de replicarse, en ausencia de una célula huésped. La replicación del genoma viral depende de la energía metabólica y de la maquinaria de síntesis macromolecular del huésped. Frecuentemente, esta modalidad de parasitismo genético culmina en el debilitamiento o la muerte de la célula huésped. Por consiguiente, la propagación exitosa de los virus requiere: 1) una forma estable que permita al virus sobrevivir en ausencia de su huésped, 2) un mecanismo para la invasión de una célula huésped, 3) información genética necesaria para la replicación de los componentes virales dentro de la célula, y 4) puede requerirse información adicional para el empaquetamiento de los componentes virales y la liberación, al exterior de la célula huésped, de los virus formados.

Con frecuencia, se distingue entre virus relacionados con eucariontes y virus vinculados con procariontes, a estos últimos se les denomina **bacteriófagos**. Es apropiado concentrar la atención en los subgrupos virales, pero nunca se debe olvidar la frase de André Lwoff: "Los virus son virus". Mucho del conocimiento de los virus —por cierto, muchos conceptos fundamentales de la biología molecular— se ha obtenido de la investigación de los bacteriófagos y es este grupo de virus el que se comenta en el presente capítulo.

La molécula de ácido nucleico de los bacteriófagos está rodeada por una envoltura proteínica. Algunos fagos también contienen lípidos, pero esto es excepcional. Se ha encontrado gran variabilidad en el ácido nucleico del fago. Muchos fagos contienen DNA de doble cadena, otros poseen RNA de una cadena y algunos contienen DNA de una cadena. A veces se encuentran bases raras en el ácido nucleico del fago, como la hidroximetilcitosina. Muchos fagos contienen estructuras especializadas parecidas a jeringas, las cuales enlazan a los receptores en la superficie de la célula e inyectan el ácido nucleico del fago dentro de la célula huésped (figura 7-4).

Los fagos se pueden diferenciar con base en su modo de propagación. Los fagos líticos producen muchas copias de sí mismos conforme destruyen a la célula huésped. Los fagos líticos más estudiados, los fagos T-pares (p. ej., T2, T4) de la *Escherichia coli*, han mostrado la necesidad de una expresión oportuna de los genes virales con el fin de coordinar los eventos asociados con la formación del fago. Los fagos temperados son capaces de entrar en un estado de profago no lítico, en el cual la replicación de su ácido nu-

Cuadro 7-2. Ejemplos de actividades metabólicas determinadas por plásmidos

Microorganismo	Actividad
Especies de <i>Pseudomonas</i>	Degradación de alcanfor, tolueno, octano, ácido salicílico
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	α -amilasa
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	Utilización de H ₂ como fuente oxidable de energía
<i>Escherichia coli</i>	Captación y metabolismo de sacarosa, captación de citrato
Especies de <i>Klebsiella</i>	Fijación de nitrógeno
<i>Streptococcus</i> (grupo N)	Utilización de lactosa, sistema de galactosa fosfotransferasa, metabolismo del citrato
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	Síntesis del pigmento fotosintético
Especies de <i>Flavobacterium</i>	Degradación del nylon

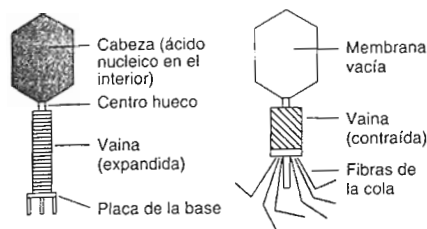


Figura 7-4. Diagramas del fago T2 basados en observaciones de electromicrografía.

cleico está aparejada con la replicación del DNA de la célula huésped. Las bacterias que portan profagos se denominan **lisogénicas**, porque una señal fisiológica puede iniciar un ciclo lítico que produce la muerte de la célula huésped y la liberación de muchas copias del fago. El fago temperado mejor caracterizado es el fago λ (lambda) de *E. coli*. Se han identificado los genes que determinan la respuesta lítica o lisogénica a la infección por λ y se han explorado en detalle sus complejas interacciones.

Los fagos filamentosos, ejemplificados por el bien estudiado fago M13 de *E. coli*, son excepcionales en varios aspectos. Sus filamentos contienen DNA de una cadena formando complejos con proteínas y son expulsados de sus huéspedes, los cuales son debilitados, pero no destruidos, por la infección del fago. La ingeniería del DNA dentro del fago M13 ha proporcionado cadenas únicas que son recursos valiosos para el análisis y la manipulación del DNA.

REPLICACIÓN

El DNA de doble cadena se sintetiza por **replicación semiconservativa**. Conforme la doble cadena progenitora se desenrolla, cada cadena sirve como una plantilla (es decir, como modelo de la secuencia de la información) para la replicación del DNA. Se sintetizan nuevas cadenas con sus bases en un orden complementario al de las cadenas preexistentes. Cuando la síntesis se completa, cada molécula hija contiene una cadena progenitora y una cadena recién sintetizada.

DNA eucarionte

La replicación del DNA eucarionte comienza en varios puntos de crecimiento a lo largo del cromosoma lineal. La replicación exacta de los extremos de los cromosomas lineales requiere actividades enzimáticas diferentes de las funciones normales relacionadas con la replicación del DNA. En estas actividades pueden participar telómeros, secuencias especializadas del DNA (contenidas en los extremos del cromosoma eucarionte), que al parecer están vinculadas con la replicación exacta de los extremos del cromosoma. Los eucariontes han desarrollado una maquinaria especializada (llamada **huso**), que atrae a los cromosomas hijos hacia los núcleos separados y recién formados por el proceso de mitosis. Una división más extensa

de los núcleos por **meiosis** reduce a la mitad el número de cromosomas de las células diploides para formar células haploides. La exacta segregación de los cromosomas durante las divisiones reductivas de la meiosis es un factor importante para mantener, dentro de una especie, la estructura cromosómica. Con frecuencia, las células haploides son los **gametos**. En los eucariontes, la formación de gametos, seguida de su fusión para formar cigotos diploides, es el origen primario de la variabilidad genética mediante la recombinación.

DNA bacteriano

Las bacterias no tienen algo que se parezca a las complejas estructuras relacionadas con la segregación de los cromosomas eucariontes en los diferentes núcleos hijos. La replicación del DNA bacteriano comienza en un punto específico, a partir del cual se extiende en ambas direcciones. Durante el proceso de replicación, las dos cadenas viejas de DNA se separan y se utilizan como modelos para sintetizar las cadenas nuevas (**replicación semiconservadora**). La estructura donde las dos cadenas se separan y se lleva a cabo la síntesis nueva se conoce como **horquilla de replicación**. La replicación del cromosoma bacteriano está rigurosamente controlada y el número de cromosomas por célula en crecimiento varía entre 1 y 4. Algunos plásmidos bacterianos pueden tener hasta 30 copias en una célula y el relajamiento en el control de la replicación del plásmido, causado por mutaciones, puede conducir a cantidades aún mayores de copias.

La replicación del DNA bacteriano circular de doble cadena comienza en el **locus ori**, e implica interacciones con varias proteínas. En el caso de *E. coli*, la replicación cromosómica termina en una región denominada **ter**. Los dos cromosomas hijos se separan, o resuelven, antes de la división celular, de manera que cada progenie adquiere uno de los DNA hijos. Esto se puede lograr con la ayuda de topoisomerasas o mediante recombinación. Procesos similares conducen a la replicación del DNA del plásmido, excepto en algunos casos donde la replicación es unidireccional.

Transposones

Los transposones no llevan la información genética necesaria para acoplar su replicación a la célula en división, y su propagación, por consiguiente, depende de su integración física con el replicón bacteriano. Esta asociación es favorecida por la capacidad de los transposones para formar copias de ellos mismos, las cuales pueden insertarse dentro del mismo replicón o pueden integrarse a otro. La especificidad de la secuencia en el sitio de inserción suele ser escasa y, debido a esto los transposones a menudo parecen insertarse según un patrón aleatorio. Muchos plásmidos se transfieren entre las células bacterianas y la inserción de un transposón en uno de tales plásmidos puede causar su diseminación en la población.

Fago

Los bacteriófagos exhiben gran diversidad en la naturaleza de su ácido nucleico, la cual se refleja en los diferentes mo-

dos de replicación. Los fagos líticos y los fagos temperados utilizan estrategias de propagación muy diferentes. Los fagos líticos producen muchas copias de ellos mismos en un solo estallido de proliferación. Los fagos temperados se establecen como profagos, ya sea como parte de un replicón ya establecido o al formar un replicón independiente.

El DNA de doble cadena de muchos fagos líticos es lineal y la primera etapa en su replicación es la formación del DNA circular. Este proceso depende de extremos cohesivos, colas complementarias de DNA de una cadena que hibridan. La **ligación**, formación de un enlace fosfodiéster entre los extremos, da lugar a DNA circular enlazado por covalencia, el cual se replica de manera similar a la seguida por otros replicones. La ruptura de los círculos produce DNA lineal, que se empaqueta dentro de la envoltura proteínica para formar fagos hijos.

El DNA de cadena única de los fagos filamentosos se convierte en una variante replicativa circular de doble cadena. Una cadena de la variante replicativa se usa como plantilla en un proceso continuo que produce DNA de cadena única. La plantilla es un círculo giratorio y el DNA de cadena única producido se rompe y empaqueta con proteínas para su expulsión extracelular.

Representadas entre los fagos de RNA de cadena sencilla, están las partículas extracelulares más pequeñas, las cuales contienen información que permite su propia replicación. El RNA del fago MS2, por ejemplo, contiene (en menos de 4 000 nucleótidos) tres genes que pueden actuar como mRNA después de la infección. Un gen codifica para la envoltura proteínica y otro para la RNA polimerasa que cataliza la creación de la variante replicativa del RNA de doble cadena. El RNA de cadena sencilla producido a partir de la variante replicativa es el origen de nuevas partículas infectantes. El mecanismo de propagación del bacteriófago con RNA, mediante intermediarios de RNA, contrasta fuertemente con la propagación de los **retrovirus**, virus animales de RNA que utilizan a éste como una plantilla para la síntesis del DNA.

Algunos bacteriófagos temperados, como el fago P1 de *E. coli*, pueden establecerse en el estado de profago como plásmidos. El DNA de doble cadena de otros bacteriófagos temperados se establece como profago mediante su inserción en el cromosoma huésped. El sitio de inserción puede ser muy específico, como lo ejemplifica la integración del fago λ de *E. coli* en un solo *locus int* en el cromosoma bacteriano. La especificidad de la integración está determinada por la identidad de la secuencia del DNA compartida por el *locus int* y una región correspondiente del genoma del fago. Otros fagos temperados, como el fago Mu de *E. coli*, se integran en cualquier sitio a lo largo del cromosoma y en este aspecto se parecen a los transposones.

Los profagos contienen genes necesarios para la replicación lítica (también llamada replicación vegetativa), y la expresión de estos genes está reprimida mientras se mantiene el estado de profago. Una manifestación de la represión es que el profago establecido frecuentemente confiere inmunidad celular contra la infección lítica por un fago similar. Una cascada de interacciones moleculares inicia la **derepresión** (liberación de la represión), por lo que un profago entra en replicación vegetativa, la cual conduce a la formación de muchas partículas infecciosas. Estímulos artificiales, como la luz ultravioleta, pueden causar depresión del profago. El cambio

entre lisogenia —propagación del genoma del fago con el huésped— y el crecimiento vegetativo del fago a expensas de la célula pueden estar determinados en parte por el estado fisiológico de la célula. Una célula que no está en crecimiento no apoya la multiplicación vegetativa del fago, mientras que una célula que se encuentra en crecimiento vigoroso contiene suficiente energía y elementos de construcción para apoyar una rápida replicación del fago.

TRANSFERENCIA DEL DNA

La transferencia del DNA entre cepas de procariontes está muy difundida y contribuye de manera importante a la notable diversidad genética en las bacterias. La recombinación genética entre las bacterias es muy diferente a la fusión de cigotos que se observa en los eucariontes. El intercambio genético entre bacterias se caracteriza por la transferencia de fragmentos relativamente pequeños de un genoma donador a una célula receptora. Para que tenga éxito la recombinación genética, se requiere que el DNA donado se replique en el microorganismo recombinante. La replicación se puede lograr por integración del DNA donado en el replicón del receptor o por el establecimiento del DNA donado como un replicón independiente.

Restricción y otras limitantes en la transferencia de genes

Las **enzimas de restricción** (endonucleasas de restricción) proporcionan a las bacterias un mecanismo para distinguir entre su propio DNA y el DNA de otras fuentes biológicas. Estas enzimas hidrolizan al DNA en sitios de restricción determinados por secuencias específicas del DNA, que varían de 4 a 13 bases. En esta especificidad de reconocimiento de las secuencias radica la selectividad en la preparación del fragmento del DNA, la cual en gran parte es el fundamento de la ingeniería genética. Cada cepa bacteriana que posee un sistema de restricción es también capaz de enmascarar estos sitios de reconocimiento en su propio DNA mediante su modificación a través de la metilación de un residuo de adenina o de citosina dentro de dicho sitio. Estos sistemas de modificación-restricción caen en dos grandes grupos: los sistemas tipo I, en los cuales las actividades de restricción y modificación están combinadas en una sola proteína con muchas subunidades; y los sistemas tipo II, que consisten de endonucleasas y metilasas separadas. Una consecuencia biológica directa de la restricción puede ser la digestión del DNA donado antes de que tenga la oportunidad de llegar a establecerse como parte de un replicón recombinante. Por consiguiente, muchos receptores utilizados en ingeniería genética son disfuncionales en los genes *res* relacionados con la restricción.

Algunos plásmidos tienen una variedad reducida de huéspedes y son capaces de replicarse sólo en un grupo de bacterias estrechamente relacionadas. Otros plásmidos, ejemplificados por algunos de resistencia a los fármacos, se replican en una variedad muy amplia de bacterias recombinantes. Sin embargo, no todos los tipos de plásmidos pueden coexistir de manera estable en una célula: algunos tipos interferirán

con la replicación o con la fragmentación de otro tipo de plásmidos, de modo que si dos de tales plásmidos se introducen en una misma célula, uno u otro se perderá más rápido de lo normal durante la división de la célula que los alberga. Este fenómeno se conoce como **incompatibilidad plasmídica**; dos plásmidos que no pueden coexistir de manera estable pertenecen al mismo grupo de incompatibilidad (**Inc**), en tanto que, dos plásmidos que sí son capaces de coexistir de modo estable, pertenecen a grupos Inc diferentes.

Mecanismos de recombinación

El DNA donado que no lleva información necesaria para su propia replicación debe recombinarse con el DNA receptor con el fin de llegar a establecerse en una cepa receptora. La recombinación puede ser **homóloga**, una consecuencia de la gran similitud en las secuencias del DNA donado y las del receptor, o **no homóloga**, resultado de una recombinación catalizada por enzimas entre secuencias de DNA diferentes. La recombinación homóloga casi siempre implica el intercambio entre genes que comparten un ancestro común. El proceso requiere un grupo de genes designados *rec* y las disfunciones en éstos dan lugar a bacterias que pueden mantener genes con gran homología en ausencia de recombinación. La recombinación no homóloga depende de secuencias codificadas por el DNA integrado y se ejemplifica con bastante claridad por la inserción del DNA en un receptor para formar una copia del transposón donado.

El mecanismo de recombinación mediado por los productos del gen *rec* es recíproco: la introducción de una secuencia donada en un receptor es reflejada de la transferencia de la secuencia receptora homóloga en el DNA donado. Los científicos ponen cada vez más atención a la función de la **conversión génica** —la transferencia no recíproca de secuencias del DNA del donador al receptor— en la adquisición de la diversidad genética.

Mecanismos de transferencia de genes

Los tres principales tipos de intercambio genético en los procariontes se diferencian por la forma en que se dona el DNA. En la **conjugación**, únicamente se transfiere una cadena de DNA (figura 7-5). La célula receptora completa la estructura de DNA de doble cadena y por medio de la síntesis de la cadena que complementa aquella adquirida del donador. En la **transducción**, el DNA se transporta dentro de la cubierta de un fago y se transfiere al receptor por el mecanismo utilizado en la infección por fagos. La **transformación**, la captación directa del DNA por la célula receptora, puede ser natural o forzada. Relativamente pocas cepas bacterianas son naturalmente competentes para la transformación; estas cepas asimilan el DNA que se encuentra en forma lineal. La transformación forzada se induce en el laboratorio, en donde, después de tratamiento con sales concentradas y choques térmicos, muchas bacterias se vuelven competentes para asimilar plásmidos extracelulares. La capacidad para forzar a las bacterias mediante transformación a que incorporen a los plásmidos extracelulares es fundamental en la ingeniería genética.

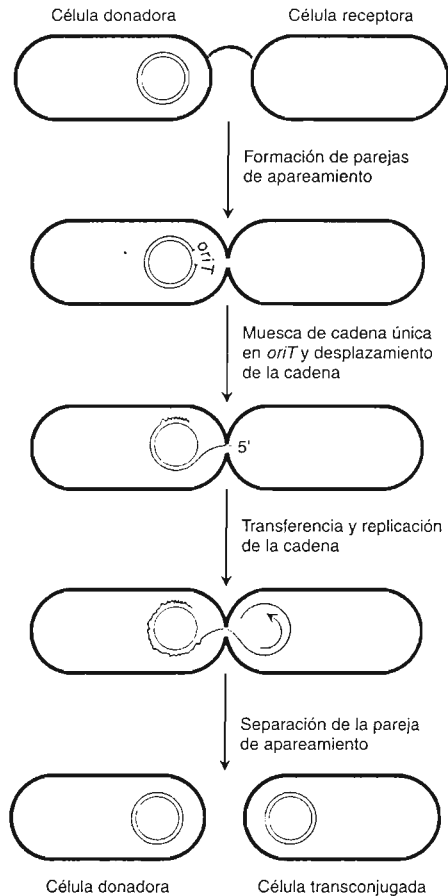


Figura 7-5. Mecanismo de transferencia de plásmidos durante la conjugación. La célula donadora produce un *pilus*, que es codificado por el plásmido y contacta una célula receptora potencial que no contiene el plásmido. La retracción del *pilus* establece el contacto íntimo entre las células y se forma un poro en las membranas celulares adjuntas. El inicio del apareamiento es una señal para que el plásmido comience su transferencia de una muesca de cadena única en *oriT*. La muesca se forma mediante las funciones *tra* codificadas por el plásmido. La terminal 5' de una cadena única del plásmido es transferida a la célula receptora a través del poro. Durante la transferencia, el plásmido de la donadora se replica, y la síntesis de su DNA es iniciada por 3'OH de la mella *oriT*. La replicación de la cadena única en la célula receptora tiene lugar por medio de un mecanismo diferente con *primers* (inicializadores) RNA. Ahora ambas células contienen plásmidos de doble cadena, y las parejas de apareamiento se encuentran separadas. (Redibujado de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, 1997.)

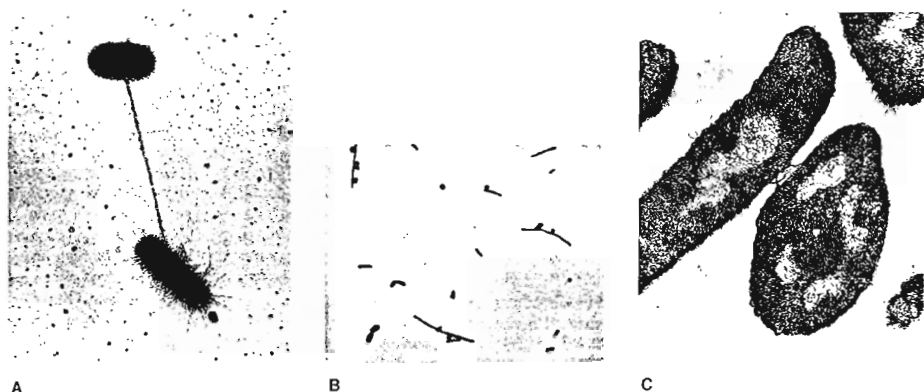


Figura 7-7. A: células macho y hembra unidas por un *pili F* (*pili sexual*). El *pili F* se ha "teñido" con partículas de fago de RNA, específicas para la célula macho. La célula macho posee además *pili F* común, el cual no absorbe fagos específicos de células macho y no interviene en el apareamiento. **B:** parejas copulantes de células de *E. coli*. Las células Hfr están alargadas. **C:** micrografía electrónica de un corte delgado de una pareja copulante. Las paredes celulares de la pareja copulante están en contacto íntimo en el área del "puente". (Micrografía electrónica [A] por Carnahan J y Brinton C. De Stanier RY, Duodorf M, Adelberg EA: *The Microbial World*, 3rd ed. Copyright © 1970. Con autorización de Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ. Fotografías [B] y [C] de Gross JD y Caro LG: DNA transfer in bacterial conjugation. *J Mol Biol* 1966;16:269.)

ploides con frecuencia son genéticamente inestables, debido a que la recombinación entre el plásmido y el cromosoma homólogo puede terminar en pérdida o intercambio de mutantes o alelos de tipo silvestre. Comúnmente, este problema puede ser superado por el mantenimiento de merodiploides en un ambiente genético en el que *recA*, un gen necesario para la recombinación entre segmentos homólogos del DNA, se ha inactivado por mutación.

Los genes homólogos de diferentes microorganismos pudieron haber divergido a tal grado que se impida la recombinación entre ellos, pero sin alterar la capacidad de un gen para completar la actividad faltante del otro. Por ejemplo, es poco probable que el origen genético de una enzima necesaria para la biosíntesis de un aminoácido influya en la actividad catalítica en el citoplasma de un huésped distante desde el punto de vista de su evolución biológica. Un merodiploide que porte un gen para tal enzima también podría portar genes flanqueadores derivados del microorganismo donador. En consecuencia, la genética microbiana convencional, basada en la selección de plásmidos cebadores, puede usarse para aislar genes de microorganismos *E. coli* o *P. aeruginosa* que tienen requerimientos nutricionales complicados. La importancia de esta tecnología radica en que simplifica o supera los procedimientos relativamente costosos de la ingeniería genética.

B. Transducción

La transducción es la recombinación genética en bacterias mediada por fagos. En términos más simples, una partícula de transducción podría considerarse como DNA bacteriano en una envoltura de fago. Una población de fagos líticos puede contener incluso algunas partículas en las cuales la cubierta del fago envuelva al DNA procedente de la bacteria y no del fago. Estas poblaciones se han utilizado para transferir genes

de una bacteria a otra. Los fagos temperados son los vehículos preferidos para la transferencia de genes, debido a que la infección de una bacteria receptora bajo condiciones que favorecen la lisogenia disminuye la lisis celular y, de esta manera, favorece la sobrevivencia de las cepas recombinantes. De hecho, una bacteria receptora que porte un profago apropiado puede formar un represor que convierta a la célula en inmune a la infección lítica; tales células pueden todavía captar el DNA bacteriano de las partículas transductoras. Es posible preparar mezclas transductoras que transporten el DNA en condiciones que favorezcan el ciclo lítico del fago.

Por lo general, el tamaño del DNA en las partículas transductoras no es mayor de un pequeño porcentaje del cromosoma bacteriano y, por consiguiente, la **cotransducción** (transferencia de más de un gen al mismo tiempo) está limitada a los genes bacterianos enlazados. El proceso tiene un valor particular en la elaboración de mapas de genes que están demasiado juntos entre sí como para identificar su orden según la transferencia por conjugación. Los fagos mutantes se pueden identificar con base en la morfología de la placa que forman por lisis del cultivo bacteriano que crece en un medio de agar solidificado. Los mapas genéticos de fagos se han construido por análisis de las placas provenientes de bacterias infectadas simultáneamente con dos fagos diferentes.

Las islas de patogenicidad son, con frecuencia, transportadas por fagos. Por ejemplo, dos fagos transportan las islas de patogenicidad responsables de la conversión de una forma benigna de *Vibrio cholerae* en la forma patológica responsable de la epidemia de cólera (capítulo 18).

La velocidad con la que los fagos se recombinan y replican los ha convertido en sujetos ideales para el estudio de estos procesos y muchas generalizaciones respecto de los mecanismos subyacentes provienen de la genética de los fa-

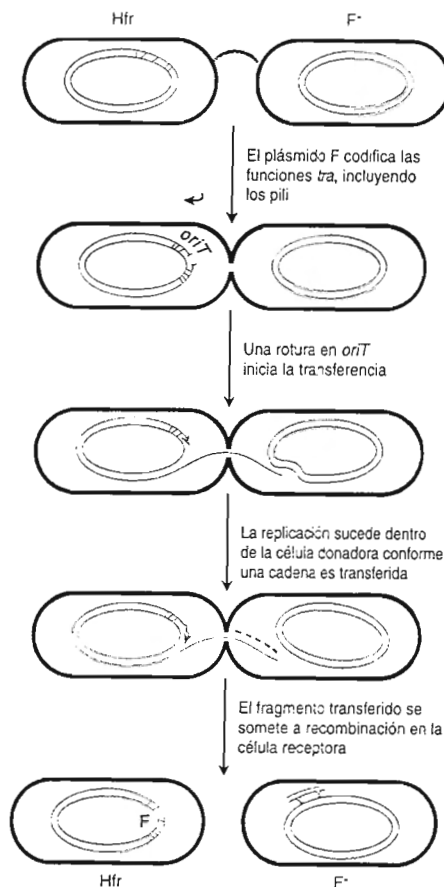


Figura 7-8. Transferencia del DNA cromosómico mediante un plásmido integrado. La formación de las parejas de apareamiento, el corte de la secuencia *oriT* de F y la transferencia de la terminal 5' de una cadena única de DNA F proceden de la misma manera que en la transferencia del plásmido F. La transferencia de un DNA cromosómico con enlaces covalentes también tendrá lugar conforme el apareamiento se estabiliza. Es infrecuente la transferencia cromosómica completa, y es por eso que la célula receptora permanece F+, aun después del apareamiento. La replicación en la célula donadora comúnmente acompaña a la transferencia del DNA. En ocasiones puede haber cierta replicación de la cadena única transferida. Una vez dentro de la célula receptora, el DNA transferido se puede recombinar con secuencias homólogas del cromosoma receptor. (Redibujado de Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, 1997.)

gos. La capacidad de los fagos para hacer réplicas rápidas de su DNA los hace valiosos en la ingeniería genética. De valor particular son los fagos recombinantes manipulados para que

contengan inserciones de DNA de otras fuentes biológicas. El DNA insertado puede replicarse con la rapidez que caracteriza al DNA del fago y se recupera de manera útil para la manipulación. El DNA de una cadena producido por el fago M13 y sus derivados sirve como plantilla para la secuenciación y la mutagénesis dirigida a un sitio.

C. Transformación

La captación directa del DNA por las células receptoras depende de la competencia de éstas para la transformación. La ocurrencia natural de esta propiedad es rara entre las bacterias y algunas de estas cepas son transformables solamente en presencia de factores de competencia, producidos sólo en momentos específicos durante el ciclo de crecimiento. Otras cepas sufren con facilidad transformación natural y estos microorganismos son prometedores en la ingeniería genética, debido a la facilidad con la cual incorporan al DNA modificado en sus cromosomas. Bacterias transformables naturalmente competentes pertenecen a varios géneros, e incluyen a *Bacillus subtilis*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Streptococcus pneumoniae*. Los fragmentos de DNA que contienen genes de tales microorganismos pueden identificarse fácilmente con base en su capacidad para transformar las células mutantes al tipo silvestre. Estas técnicas representan un avance sustancial respecto de los procedimientos laboriosos utilizados por Avery *et al.* para demostrar que el principio transformante del neumococo era el DNA.

La transformación natural es un proceso activo que requiere enzimas específicas producidas por la célula receptora. Muchas bacterias incapaces de experimentar una transformación natural pueden ser forzadas a incorporar plásmidos mediante el tratamiento con cloruro de calcio y choque térmico. La transformación con plásmidos recombinantes manipulados por este procedimiento es un principio fundamental de la biología molecular moderna, ya que hace posible integrar DNA de diversos orígenes biológicos en replicones bacterianos bien caracterizados.

MUTACIÓN Y REORDENAMIENTO DE GENES

Mutaciones espontáneas

Las mutaciones son cambios en la secuencia del DNA. Las mutaciones espontáneas para un gen dado generalmente se presentan con una frecuencia de 10^{-8} a 10^{-6} en una población derivada de una sola bacteria. Las mutaciones incluyen sustituciones, pérdidas, inserciones y reordenamiento de bases. Las sustituciones son una consecuencia del apareamiento equivocado entre bases complementarias durante la replicación. En el caso de *E. coli*, esto sucede aproximadamente una por cada 10^{10} veces que se incorpora un nucleótido a una base. El establecimiento de estas mutaciones se reduce al mínimo gracias a las enzimas encargadas de la reparación del apareamiento equivocado, un proceso que esencialmente lee y corrige una cadena recién sintetizada para asegurar que se complementa perfectamente con su plantilla. Las enzimas distinguen a la cadena recién sintetizada de la preexistente por la metilación de la adenina en las secuencias GATC de la cadena preexistente. Un sistema especial

de reparación del DNA, denominado **respuesta SOS**, se activa en las células en las que el DNA se ha dañado.

Muchas sustituciones de bases escapan a su detección en el nivel fenotípico porque no alteran de manera significativa la función del producto génico. Por ejemplo, las **mutaciones por error**, que resultan de la sustitución de un aminoácido por otro, pueden no tener un efecto fenotípico discernible. Las **mutaciones sin sentido** detienen la síntesis de proteínas y así se obtiene una proteína truncada en el sitio de la mutación. Los productos génicos de las mutaciones sin sentido generalmente son inactivos.

Las consecuencias de las mutaciones por delección o inserción también son graves debido a que pueden alterar drásticamente la secuencia de aminoácidos de los productos génicos. Como se describe posteriormente, la expresión exacta de las secuencias del DNA depende de la traducción ordenada de tripletes de nucleótidos en los codones en la fase correcta. La inserción o delección de un solo nucleótido altera la fase de traducción y, de esta manera, introduce una secuencia proteínica enteramente diferente, distal al aminoácido del codón alterado por la mutación.

Una fracción importante de las mutaciones espontáneas las constituyen las delecciones que eliminan grandes porciones de genes o a un conjunto de genes. Las delecciones implican la recombinación entre las secuencias repetidas directamente (p. ej., elementos IS) y casi nunca se revierten. Otras mutaciones espontáneas causan duplicación, con frecuencia en tándem, de longitudes comparables del DNA. Tales mutaciones comúnmente son inestables y revierten fácilmente. Otras mutaciones pueden invertir secuencias largas del DNA o transponer dichas secuencias a nuevos *loci*. La comparación de mapas genéticos de cepas bacterianas relacionadas han mostrado que tales reordenamientos se pueden fijar en las poblaciones naturales. Estas observaciones apuntan hacia el hecho de que la separación lineal de fragmentos del DNA no elimina totalmente las posibilidades de interacción física o química entre ellos.

Mutágenos

La frecuencia de mutación se incrementa en gran medida por la exposición de la célula a los mutágenos. La luz ultravioleta (UV) es un **mutágeno físico** que daña al DNA al enlazar bases de timina vecinas para formar dímeros. Durante la reparación enzimática de este daño genético pueden introducirse errores en la secuencia. Los **mutágenos químicos** actúan al alterar la estructura física o química del DNA. Los compuestos químicos activos alteran la estructura de las bases en el DNA. Por ejemplo, el ácido nítrico (HNO_3) sustituye los grupos hidroxilo por grupos amino. El DNA resultante tiene alterada su función de plantilla en los subsiguientes cursos de replicación. Las **mutaciones por corrimiento del marco de lectura** —introducción o remoción de un solo par de bases del DNA— se producen por un deslizamiento pequeño de las cadenas del DNA. Este deslizamiento se favorece por colorantes de acridina, los cuales pueden intercalarse entre las bases.

En general, el efecto directo de los mutágenos químicos o físicos es el daño sobre el DNA. Las mutaciones resultantes se introducen por las enzimas relacionadas con la replicación

o la reparación. Las mutaciones que cambian las propiedades de estas enzimas pueden convertirlas en mutágenos biológicos, los productos de los genes mutadores. Otras modalidades de mutagénesis biológica son las inserciones en los genes de reparación causadas por transposones, como el fago Mu.

Inversión y supresión

La recuperación de una actividad perdida como consecuencia de una mutación se denomina **reversión fenotípica**, la cual puede resultar o no de la restitución de la secuencia original del DNA, como podría ser exigido por la **reversión genotípica**. Frecuentemente una mutación en un segundo *locus*, llamada **mutación supresora**, restituye la actividad perdida. En la **supresión intragénica**, después de que una mutación primaria ha cambiado la estructura de la enzima con la pérdida consiguiente de su actividad, una segunda mutación en un sitio diferente en el gen de la enzima restituye la estructura requerida para su actividad. La **supresión extragénica** se debe a una segunda mutación que sucede fuera del gen afectado originalmente. Ejemplos muy bien caracterizados son los **supresores sin sentido**, los cuales generalmente son resultado de la mutación de un gen del tRNA que modifica el anticodón del tRNA, de manera que éste se puede aparear con el de sentido equivocado (mutación sin sentido) y permitir la introducción de aminoácidos en sitios donde las mutaciones sin sentido causan la terminación de la síntesis de la proteína.

EXPRESIÓN GÉNICA

La gigantesca separación evolutiva de los genomas de los eucariontes y de los procariontes se explica al comparar sus mecanismos de expresión génica, en los cuales comparten ciertas propiedades. En ambos grupos la información genética está codificada en el DNA, se transcribe al mRNA y se traduce en los ribosomas, mediante el tRNA, al interior de la estructura de las proteínas (figura 7-9). Los tripletes de nucleótidos en los codones usados en la traducción generalmente son compartidos y muchas enzimas relacionadas con la síntesis macromolecular en los dos grupos biológicos tienen propiedades similares. Más allá de estas generalizaciones, hay diferencias importantes entre eucariontes y procariontes en cada paso de la expresión génica. El mecanismo por el cual la secuencia de los nucleótidos en un gen determina la secuencia de los aminoácidos en una proteína es como sigue:

- 1) La RNA polimerasa forma una cadena de polirribonucleótidos, llamada "RNA mensajero" (mRNA) al utilizar al DNA como plantilla; este proceso se denomina **transcripción**. El mRNA posee una secuencia de nucleótidos complementaria de la cadena plantilla en la doble hélice del DNA, si su lectura se realiza en la dirección 3' a 5'.
- 2) Los aminoácidos se activan enzimáticamente y son transferidos a las moléculas adaptadoras específicas del RNA, "RNA de transferencia" (tRNA). Cada molécula adaptadora tiene un triplete de bases (**anticodón**) com-

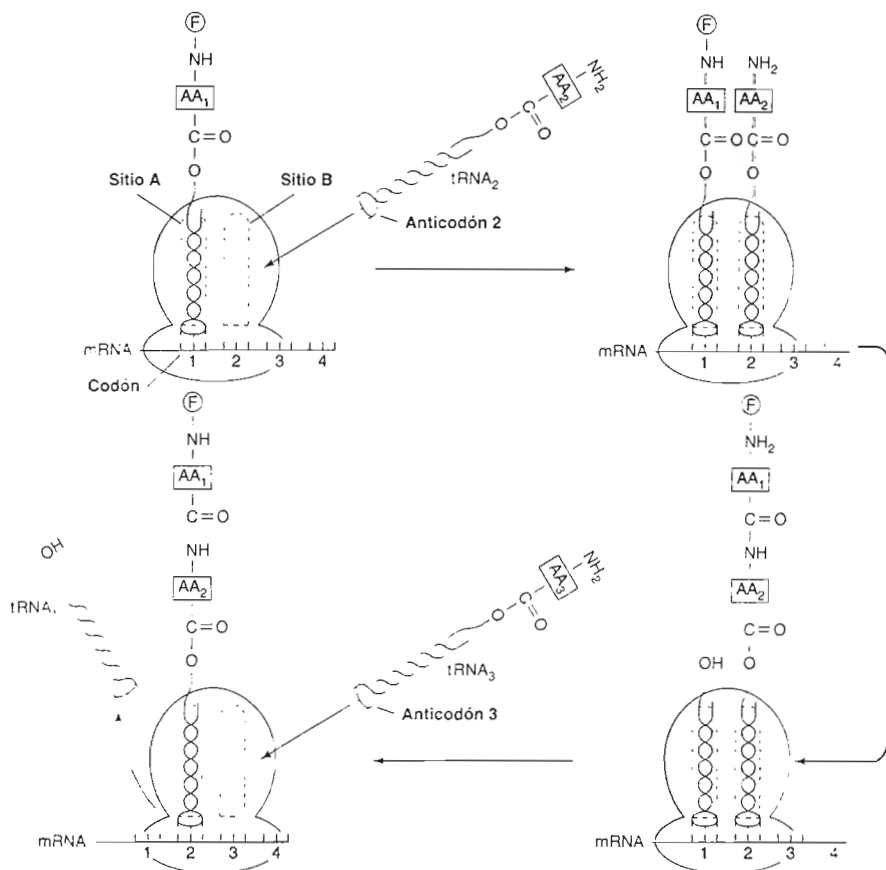


Figura 7-9. Las cuatro etapas en el alargamiento de una cadena polipeptídica en la superficie de un ribosoma 70S. **Arriba izquierda:** una molécula de tRNA que posee en un extremo el anticodón complementario al codón 1, y AA₁ en el otro, se une al sitio A. El AA₁ está unido al tRNA por medio de su grupo carboxilo; su nitrógeno amino tiene un grupo formilo (F). **Arriba derecha:** una molécula de tRNA que lleva a un AA₂, se une al sitio B; su anticodón es complementario al codón 2. **Abajo derecha:** un complejo enzimático cataliza la transferencia del AA₁ al grupo amino de AA₂, y forma un enlace peptídico. (Note que la transferencia en la dirección opuesta está impedida por la formación previa del grupo amino del AA₁.) **Abajo izquierda:** el ribosoma se mueve a la derecha, de modo que los sitios A y B están ahora opuestos a los codones 2 y 3; en el proceso el tRNA₁ sale de este lugar y el tRNA₂ se mueve al sitio A. El sitio B está vacante de nuevo y listo para aceptar el tRNA₃ portador del AA₃. (Cuando el polipéptido está completo y se libera, el grupo formilo se desprende por acción enzimática.) (Redibujado y reproducido con autorización de Stanier RY, Doudoroff M, Adelberg EA: *The Microbial World*, 3rd ed. Copyright © 1970. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ.)

- plementario al triplete de bases del mRNA y en un extremo a su aminoácido específico. El triplete de bases mRNA se denomina el **codón** para ese aminoácido.
- 3) El mRNA y el tRNA se encuentran en la superficie del ribosoma. Conforme cada tRNA encuentra a su triplete complementario de nucleótidos sobre el mRNA, el aminoácido que portan se une mediante un enlace peptídico con el aminoácido de la molécula de tRNA que

le precede (vecino). La enzima **peptidiltransferasa** (que en realidad es la 23S RNA; esto es, una **ribozima**) cataliza la formación del enlace peptídico. Los ribosomas se mueven a lo largo del mRNA, el polipéptido crece progresivamente hasta que toda la molécula del mRNA se ha traducido en la secuencia correspondiente de aminoácidos. Este proceso, llamado **traducción**, se presenta como diagrama en la figura 7-9.

En los procariontes, los genes que comparten funciones semejantes frecuentemente están agrupados, mientras que en los eucariontes tal agrupamiento es bastante raro. Las **secuencias facilitadoras** son regiones del DNA eucarionte que incrementan la transcripción y pueden permanecer muy distantes, corriente arriba, del gen transcrito. Los genes de los eucariontes portan intrones, inserciones de DNA que generalmente no se encuentran en los genes procariontes. Los intrones separan a los exones, las regiones codificantes de los genes eucariontes. Los intrones transcritos se eliminan de las transcripciones eucariontes durante el procesamiento del RNA mediante una serie de reacciones enzimáticas, las cuales tienen lugar en el núcleo. Hasta donde se sabe, el mRNA procarionte se renueva con rapidez, mientras que algunas moléculas del mRNA eucarionte son bastante estables, como sucede con el RNA de la hemoglobina de los eritrocitos.

Los ribosomas de los eucariontes y de los procariontes difieren en muchos aspectos. Los ribosomas eucariontes son más grandes y tienen un coeficiente de sedimentación de 80S en comparación con el de 70S de los ribosomas procariontes. Las subunidades ribosómicas eucariontes 40S y 60S son más grandes que las correspondientes subunidades ribosómicas 30S y 50S de los procariontes, y los ribosomas eucariontes son relativamente ricos en proteínas. Estas diferencias significativas son inherentes a la sensibilidad de la actividad de los ribosomas a los antibióticos, muchos de los cuales inhiben selectivamente la síntesis de proteínas en los procariontes, pero no en el citoplasma de los eucariontes (capítulo 9). Debe recordarse, sin embargo, que los ribosomas mitocondriales en los eucariontes son similares a los de los procariontes.

Regulación de la expresión génica

El mRNA eucarionte se transporta desde el núcleo al citoplasma, en donde se presenta la traducción. En contraste, la traducción del mRNA procarionte está acoplada a su síntesis y en este acoplamiento se dan las oportunidades para su regulación, que pueden ser exclusivas de los procariontes. Por ejemplo, la **atenuación** que es la terminación prematura del mRNA transcrito a partir de los genes biosintéticos si no son necesarias las enzimas, se efectúa por la capacidad de la célula para sintetizar un péptido guía. La atenuación a veces está supeditada a si ciertos codones de la secuencia guía son traducidos. La interrupción del ribosoma en estos codones puede causar cambios de estructura secundaria en el mRNA guía, lo cual conducirá a la terminación de la transcripción por parte de la RNA polimerasa antes de que ésta llegue al primer gen del operón. El bloqueo de la síntesis del péptido guía, que puede ocurrir por la privación de un aminoácido, hace que el mRNA asuma una estructura que enmascara oculta la señal de terminación y permite que la transcripción continúe en los genes estructurales. De esta manera, en ausencia de los aminoácidos requeridos para la síntesis del péptido, el producto biosintético final disminuye la atenuación y da lugar a un incremento en las concentraciones de las enzimas biosintéticas.

Proteínas específicas, productos de los genes reguladores, gobiernan la expresión de los genes estructurales que codifican para enzimas. La transcripción del DNA en mRNA

comienza en el **promotor**, la secuencia del DNA que se une con la RNA polimerasa. La magnitud de la expresión génica está determinada, en parte, por la capacidad del promotor para unirse con la polimerasa y la efectividad intrínseca de los promotores varía ampliamente. Las proteínas reguladoras que se unen con las regiones del DNA cercanas a los promotores ejercen controles adicionales sobre la expresión génica.

Algunos genes estructurales procariontes que codifican una serie de reacciones metabólicas están agrupados en un **operón**. Estos genes se expresan como un solo segmento de mRNA y la expresión de este segmento transcrito puede estar gobernada por un solo gen regulador. Por ejemplo, cinco genes relacionados con la biosíntesis del triptófano están agrupados en el operón *trp* de *E. coli*. La expresión génica está controlada por la atenuación, como se describió líneas arriba, y también está controlada por la represión: la unión del triptófano con una **proteína represora** le confiere una conformación que le permite unirse con **operador** *trp*, una secuencia corta del DNA que ayuda a regular la expresión génica. La unión de la proteína represora con el operador impide la transcripción de los genes *trp*. Esta modalidad de control es independiente de la atenuación, utilizada también para controlar la expresión del gen *trp*.

La prevención de la transcripción por una proteína represora se conoce como **control negativo**. La modalidad opuesta de la regulación de la transcripción (inicio de la transcripción como respuesta a la unión con una **proteína activadora**) se denomina **control positivo**. Ambas modalidades de control se dan sobre la expresión del operón *lac*, genes asociados con la fermentación de la lactosa en *E. coli*. El operón contiene tres genes estructurales. El transporte de la lactosa al interior de la célula está mediado por el producto del gen *lacY*. La β galactosidasa, la enzima que hidroliza a la lactosa en galactosa y glucosa, está codificada por el gen *lacZ*. El producto del tercer gen (*lacA*) es una transacetilasa; la función fisiológica de esta enzima aún no se ha dilucidado.

La β galactosidasa produce alolactosa, un subproducto de su funcionamiento normal, el cual es un isómero estructural de la lactosa. La lactosa por sí misma no tiene influencia en la regulación de la transcripción. Esta función está dada por la alolactosa, la cual es el **inductor** del operón *lac* debido a que es el metabolito que estimula de manera más directa la expresión génica. En ausencia de alolactosa, el represor *lac*, un producto del gen *lacI* controlado de manera independiente, ejerce control negativo sobre la transcripción del operón *lac* al unirse con el operador *lac*. En presencia del inductor el represor es liberado del operador y se realiza la transcripción.

La expresión del operón *lac* y de muchos otros operones de enzimas relacionadas con la fermentación, se potencia por la unión de la **proteína fijadora del monofosfato de adenosina cíclico (CAP)** a una secuencia específica del DNA cercana al promotor del operón regulado. Esta proteína ejerce control positivo al estimular la actividad de la RNA polimerasa. El metabolito que desencadena el control positivo por su unión con el CAP es el 3',5'-monofosfato de adenosina cíclico (cAMP). Este compuesto, que se forma en las células carentes de energía, actúa a través de la CAP para potenciar la expresión de las enzimas catabólicas, las cuales dan lugar a la energía metabólica.

El cAMP no es el único en su capacidad para ejercer control sobre los genes no enlazados en *E. coli*. Varios genes

diferentes responden al nucleótido ppGpp (en el que "p" denota fosfodiéster y "G", guanina) como una señal de la deprivación de aminoácidos, y los genes no enlazados se expresan como parte de la respuesta SOS a la lesión del DNA. Otro grupo más de genes no enlazados interviene en la respuesta al choque térmico. Esta respuesta se encuentra tanto en procariontes como en eucariontes.

La comprensión de los sistemas procariontes de control transcripcional ha probado que tiene valor tanto conceptual como técnico. El operón *lac* ha demostrado ser un modelo útil para estudios comparativos de la expresión génica. Por ejemplo, el fenómeno de la represión descrito por primera vez con claridad para el operón *lac*, es responsable de la respuesta lisogénica a la infección por fagos temperados como el λ . El estudio minucioso del sistema *lac* de *E. coli* ha proporcionado muchas aplicaciones útiles en ingeniería genética. La inserción de DNA extraño en los plásmidos para formar vectores recombinantes con frecuencia se valora fenotípicamente mediante el uso de una prueba de color para vigilar la inactivación por inserción del gen *lacY*, y el promotor *lac* se utiliza a menudo para lograr una expresión controlada de los genes insertados.

INGENIERÍA GENÉTICA

La ingeniería es la aplicación de la ciencia a las necesidades de la sociedad. En años recientes, la ingeniería basada en la genética bacteriana ha transformado a la biología. Se pueden aislar y amplificar fragmentos específicos del DNA y sus genes pueden expresarse repetidas veces. La especificidad de los nucleótidos requerida para su partición por enzimas de restricción permite que los fragmentos que contienen genes o partes de genes se unan covalentemente a los plásmidos ("vectores"), los cuales pueden insertarse en las bacterias huéspedes. Las colonias bacterianas o clones que portan genes específicos pueden identificarse mediante hibridación del DNA o del RNA con sondas químicas o radioquímicas. De otra manera, los productos proteínicos codificados por los genes pueden reconocerse ya sea mediante actividad enzimática o por técnicas inmunitarias. Estos últimos procedimientos han mejorado de modo importante gracias a la notable selectividad con la que los anticuerpos monoclonales (capítulo 8) se unen con determinantes antigénicos específicos en las proteínas. De esta manera, las técnicas de ingeniería genética pueden usarse para aislar virtualmente cualquier gen con una propiedad bioquímica reconocible.

Los genes aislados pueden usarse para diversos propósitos. La mutagénesis dirigida a un sitio puede identificar y alterar la secuencia del DNA de un gen. De este modo, se pueden determinar y, si se desea, alterar los residuos de nucleótidos esenciales para la función del gen. Con técnicas de hibridación, el DNA puede utilizarse como una sonda que reconozca los ácidos nucleicos correspondientes a la secuencia complementaria de su propio DNA. Por ejemplo, un virus latente en un tejido animal puede detectarse con una sonda de DNA aun en ausencia de actividad viral. Los productos proteínicos de genes virales aislados ofrecen grandes oportunidades como vacunas porque se pueden preparar sin genes que codifican la replicación del ácido nucleico viral. Aun

más, las proteínas como la insulina, que tienen funciones benéficas, pueden prepararse en grandes cantidades en bacterias que expresan los genes clonados.

PREPARACIÓN DE FRAGMENTOS DEL DNA CON ENZIMAS DE RESTRICCIÓN

La diversidad genética de las bacterias se refleja en su notable variedad de **enzimas de restricción**, las cuales poseen una gran selectividad que les permite reconocer regiones específicas del DNA para su segmentación. Las secuencias del DNA reconocidas por enzimas de restricción son predominantemente palindrómicas (repeticiones de secuencias invertidas). Una secuencia típica de un palíndromo, reconocida por la muy utilizada enzima de restricción *EcoRI*, es la GAATTC: la repetición invertida, inherente en la complementariedad de los pares de bases G-C y A-T, ocasiona que la secuencia 5' TTC se refleje como AAG en la cadena 3'.

La longitud de los fragmentos del DNA producidos por las enzimas de restricción varía notablemente debido a la individualidad de la secuencia del DNA. La longitud promedio del fragmento del DNA está determinada en parte por el número de bases específicas reconocidas por una enzima. La mayor parte de, las enzimas de restricción reconocen secuencias de 4, 6 u 8 bases; no obstante, otras enzimas de restricción reconocen secuencias base 10, 11, 12 o 15. El reconocimiento de cuatro bases produce fragmentos con una longitud promedio de 250 pares de bases y, en consecuencia, es útil para el análisis o la manipulación de fragmentos de genes. Los genes completos con frecuencia están cercados por enzimas de restricción que reconocen seis bases y producen fragmentos con un tamaño promedio cercano a los 4 000 pares de bases. Las enzimas de restricción que reconocen ocho bases producen fragmentos con un tamaño clásico de 64 000 pares de bases y son útiles para el análisis de regiones genéticas largas. Las enzimas de restricción que reconocen más de 10 bases resultan muy útiles para la construcción de un mapa físico o para la tipificación molecular mediante electroforesis de campos pulsados en gel.

SEPARACIÓN FÍSICA DE FRAGMENTOS DE DIFERENTE TAMAÑO DEL DNA

Gran parte de la simplicidad inherente a las técnicas de ingeniería genética radica en el hecho de que la electroforesis en gel permite que los fragmentos del DNA sean separados con base en su tamaño (figura 7-10A); mientras más pequeño es el tamaño del DNA, el coeficiente de migración es más alto. El coeficiente global de migración y los límites óptimos del tamaño para la separación están determinados por la naturaleza química del gel y por el grado de sus enlaces cruzados. Geles con entrecruzamiento abundante son óptimos para la separación de los fragmentos pequeños del DNA. El bromuro de etidio forma un agregado fluorescente cuando se enlaza con el DNA, de modo que es posible fotografiar cantidades pequeñas de fragmentos separados del DNA en los geles (figura 7-10). Los fragmentos específicos

del DNA
cuencias
La e
ción de lo
pares de b
ción de es
de un ma
bacteriana
estar orga

CLON DIGES

Genera

Muchas e
producen
hesivos) c
usarse par

A. Fr

Tamaño
fragme
(kbp)

4

3

2

1

0.5

B. Si

Longit

Sitios

la enz

Figura 7-
mas pequ
distancia
verse por
determina
formado p
(S) en pos
el fragmen
carri); la e
y 0.5 kbp
con secue
restricción
de 0.5 kbp
entre los s

del DNA pueden reconocerse por sondas que contengan secuencias complementarias (figuras 7-10B y C).

La electroforesis por campos pulsados permite la separación de los fragmentos del DNA que contengan hasta 100 000 pares de bases (100 kilopares de bases [kbp]). La caracterización de estos fragmentos largos ha permitido la construcción de un mapa físico de los cromosomas de diferentes especies bacterianas. En un caso, los genes bacterianos han mostrado estar organizados en dos cromosomas separados.

CLONACIÓN DE LOS FRAGMENTOS DE DIGESTIÓN DEL DNA

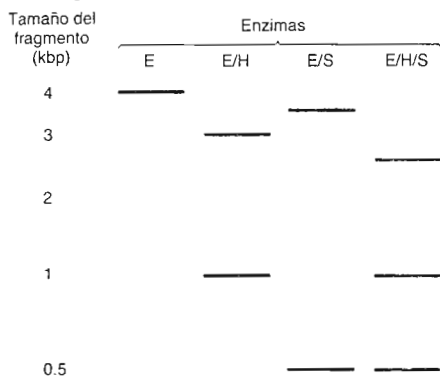
Generalidades

Muchas enzimas de restricción escinden asimétricamente y producen fragmentos de DNA con **extremos cohesivos** (adhesivos) que pueden hibridar uno con otro. Este DNA puede usarse para formar plásmidos recombinantes mediante inge-

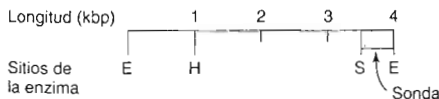
nería genética. Por ejemplo, la digestión del DNA con *EcoRI* produce DNA que contiene en el extremo 5' la secuencia AATT y en el extremo complementario 3' la secuencia TTAA (figura 7-11). La escisión de un plásmido (pieza circular de DNA) con la misma enzima de restricción produce un fragmento lineal con extremos adhesivos que son idénticos uno al otro. La remoción enzimática de los grupos fosfato libres de estos extremos asegura que no se van a volver a ligar para formar el plásmido circular original (figura 7-11). La ligadura en presencia de otros fragmentos de DNA que contienen grupos de fosfato libres produce **plásmidos recombinantes** o **plásmidos quiméricos**, que contienen fragmentos de DNA insertados en el DNA circular cerrado por enlaces covalentes (figura 7-11). Los plásmidos deben estar en forma circular con el fin de replicarse en la bacteria huésped.

Los plásmidos recombinantes pueden introducirse en una bacteria huésped, frecuentemente *Escherichia coli*, mediante transformación. Las células transformadas pueden seleccionarse con base en uno o más factores de resistencia a fármacos codificados por los genes del plásmido (figura 7-11). La

A. Fragmentos de restricción



B. Sitios de restricción



C. Hibridación con fragmentos de restricción

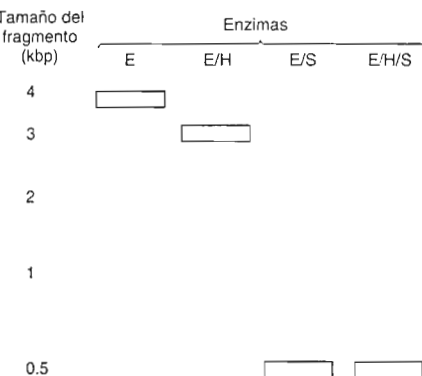


Figura 7-10. A: separación de fragmentos del DNA por electroforesis a través de un gel, con base en su tamaño. Los fragmentos más pequeños migran más rápidamente que los grandes y dentro de los límites determinados por las propiedades del gel, la distancia recorrida es aproximadamente proporcional al logaritmo del tamaño del fragmento. Los fragmentos del DNA pueden verse por la fluorescencia que emiten, después de su tinción con un colorante. B: el tamaño de los fragmentos de restricción se determina por la ubicación de los sitios de restricción en el DNA. En este ejemplo, un fragmento de 4 kbp (kilopares de bases) formado por la enzima de restricción *EcoRI* (E), contiene los sitios respectivos para las enzimas de restricción *HindIII* (H) y *SacI* (S) en posiciones que corresponden a 1.0 y 3.5 kbp. El patrón de electroforesis en A revela que la enzima de restricción E no corta el fragmento de 4.0 kbp (primer carril); la partición con la enzima de restricción H produce fragmentos de 3.0 y 1.0 kbp (segundo carril); la enzima de restricción S crea fragmentos de 3.5 y 0.5 kbp (tercer carril); la ruptura con H y S forma fragmentos de 2.5, 1.0 y 0.5 kbp (cuarto carril). El fragmento de 0.5 kbp entre los sitios S y E fue seleccionado como marcador para determinar el DNA con secuencias que forman híbridos, como se muestra en C. C: identificación de fragmentos de hibridación. Los fragmentos de restricción se separaron como en A. El procedimiento de hibridación descubre a los fragmentos que forman híbridos con la sonda de 0.5 kbp. Ellos son el fragmento de 4.0 kbp formado por la enzima de restricción E, el fragmento de 3.0 kbp que se encuentra entre los sitios E y H, y el fragmento de 0.5 kbp ubicado entre los sitios S y H.

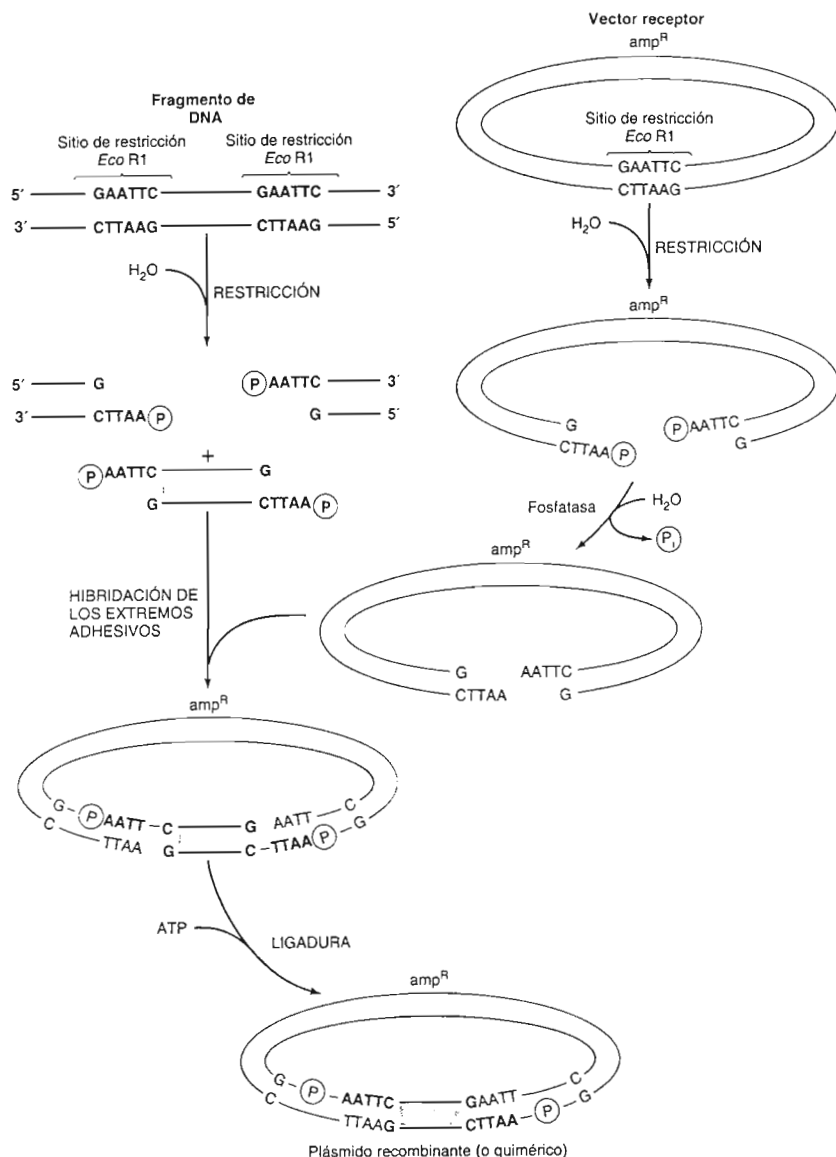


Figura 7-11. Formación de un plásmido recombinante o quimérico, a partir del DNA del donador y de un vector receptor. El vector, un plásmido que posee un sitio de restricción para *Eco*R1, se corta por la enzima y se prepara para ligarlo al eliminar a los grupos fosfato terminales. Este paso impide que los extremos adherentes del plásmido se unan en ausencia del inserto. El DNA donado se trata con la misma enzima de restricción y por ligadura se forman círculos unidos por covalencia. Un marcador con resistencia a fármacos, indicado en el plásmido como amp^R , puede usarse para seleccionar los plásmidos recombinantes después de su transformación en *E. coli*. Las enzimas de la bacteria huésped completan el enlace covalente del DNA circular y median su replicación.

población bacteriana resultante contiene una serie de plásmidos recombinantes que portan varios fragmentos de restricción derivados del DNA donado e insertado en la clona. Las técnicas de hibridación pueden usarse para identificar colonias bacterianas que tengan fragmentos específicos del DNA o, si el plásmido expresa al gen insertado, las colonias pueden seleccionarse por el producto génico (figura 7-12).

La **electroporación** es un procedimiento de reciente desarrollo para la introducción de DNA en las bacterias. Este procedimiento hace posible la utilización de diversas bacterias como huéspedes de genes manipulados.

CARACTERIZACIÓN DEL DNA CLONADO

Mapas de restricción

La manipulación del DNA clonado requiere la comprensión de su estructura. La preparación de un **mapa de restricción** es el primer paso para obtener este conocimiento. Un mapa de restricción se construye de manera muy semejante a un rompecabezas, a partir de fragmentos de diversos tamaños producidos por **digestiones sencillas** preparados con enzimas de restricción individuales y por **digestiones dobles** formados con pares de enzimas de restricción (figura 7-10). Los mapas de restricción también son la etapa inicial en la secuenciación del DNA, porque identifican los fragmentos que habrán de proporcionar las **subclonas** (fragmentos de DNA relativamente pequeños) que puedan someterse a un análisis más riguroso, incluso la secuenciación de DNA.

Además, los mapas de restricción proporcionan una base de información muy específica, la cual permite que los fragmentos del DNA, identificados con base en su tamaño, se relacionen con funciones génicas específicas.

Secuenciación

La secuenciación del DNA descubre la estructura del gen y permite a los investigadores deducir la estructura de sus productos. A su vez, esta información hace posible manipular a los genes con el fin de comprender o alterar su función. Además, el análisis de la secuencia del DNA descubre regiones reguladoras que controlan la expresión génica y los "puntos calientes" genéticos particularmente susceptibles a la mutación. La comparación de la secuencia del DNA revela interrelaciones evolutivas que proporcionan un marco de referencia para la clasificación inequívoca de los microorganismos y de los virus. Estas comparaciones pueden facilitar la identificación de regiones conservadas que pueden ser útiles, en particular, como sondas específicas de hibridación para detectar a los microorganismos o virus en las muestras clínicas.

Los dos métodos generalmente empleados para la determinación de las secuencias del DNA son la **técnica de Maxam-Gilbert**, que depende de la labilidad química relativa de los diferentes enlaces de nucleótidos, y el **método de Sanger (método de la terminación didesoxi)**, que interrumpe el alargamiento de las secuencias del DNA al incorporar didesoxinucleótidos en las secuencias.

Ambas técnicas producen un grupo de oligonucleótidos alojados uno dentro del otro a partir de un solo origen e

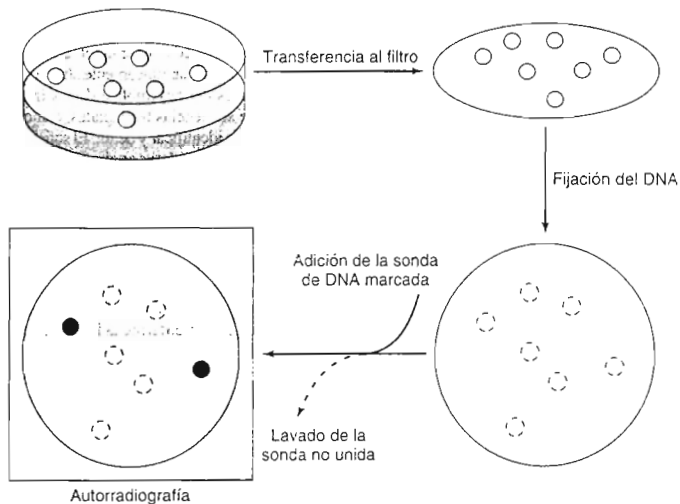


Figura 7-12. Uso de sondas para identificar clones que contienen un fragmento específico del DNA. Las colonias se transfieren a un filtro y se calientan, con lo que se lisan las células y el DNA se adhiere al filtro. Luego, el filtro se trata con una solución que contenga una sonda radiomarcada apropiada al DNA, que hibride de manera específica con las colonias deseadas. Una autorradiografía posterior del filtro identifica dichas colonias (círculos oscuros). De manera alterna, las colonias pueden analizarse con anticuerpos para determinar si sintetizaron el producto proteínico específico.

incluyen la separación secuencial en un gel de las cadenas de DNA que difieren entre sí por el incremento de un solo nucleótido. Un gel de secuenciación separa cadenas que difieren en longitud de uno a varios cientos de nucleótidos y revela secuencias de DNA de longitudes variables. Una secuencia se descubre al poner mezclas de reacciones similares en cuatro carriles paralelos, cada uno de los cuales expone un nucleótido específico en la secuencia general (figura 7-13). Por ejemplo, la terminación del alargamiento por la incorporación del 2',3'-desoxiadenu-5'-fosfato revela la longitud relativa de una cadena que contenga adenua en la posición en la que se le da término. Una serie de esas cadenas, cada una terminada en posición diferente, se crea mediante la inclusión de un poco de didesoxinucleótido en una mezcla de reacción en la que actúa una DNA polimerasa.

Cuatro carriles paralelos en el mismo gel revelan la longitud relativa de las cadenas sometidas a la terminación didesoxi en adenua, citidina, guanidina y timidina. La comparación de los cuatro carriles, que contienen mezclas de reacción que difieren sólo en el método de terminación de la cadena, hace posible determinar la secuencia del DNA por el método de Sanger (figura 7-13).

La simplicidad relativa del método de Sanger le ha dado un uso más general, pero la técnica de Maxam-Gilbert tiene un uso extenso porque expone las regiones del DNA protegidas contra la modificación química por la unión a proteínas específicas.

La secuenciación de DNA se facilita mucho por la manipulación genética del bacteriófago M13 de *E. coli*, que contiene DNA de cadena única. La variante replicativa del DNA del fago es un círculo de DNA de doble cadena cerrado por covalencia y manipulado de modo que contenga un sitio de clonación múltiple que permite la integración de los fragmentos específicos del DNA identificados previamente mediante el mapeo por restricción. Las bacterias infectadas con la va-

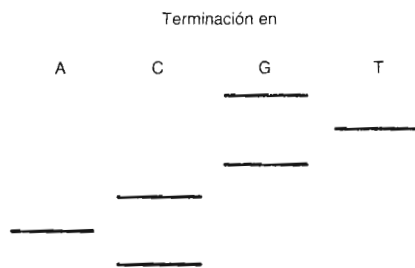
riante replicativa secretan fagos modificados que contienen, dentro de su envoltura, al DNA de una cadena que incluye a la secuencia insertada. Este DNA sirve como plantilla para las reacciones de alargamiento. El punto de partida para el alargamiento está determinado por un cebador de DNA, el cual puede sintetizarse en equipo automatizado mediante síntesis química de oligonucleótidos. Estas máquinas, capaces de producir cadenas de DNA que contengan 75 o más oligonucleótidos en una secuencia predeterminada, son extremadamente útiles en la secuenciación y en la modificación del DNA mediante la mutagénesis dirigida a un sitio.

Los oligonucleótidos químicamente sintetizados pueden servir como cebadores para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), un procedimiento que permite la amplificación y la secuenciación del DNA que se encuentra entre dos cebadores. De esta manera, en muchos casos el DNA no necesita clonarse para poder secuenciarlo o para que esté disponible para su manipulación.

El estudio de la biología se revolucionó a través del desarrollo de tecnología que permite la secuenciación y el análisis de un amplio rango de genomas completos, que va desde virus hasta microorganismos procariontes y eucariontes, y hasta humanos. Esto se facilitó mediante el empleo de un procedimiento conocido como "escopetazo". En este procedimiento, el DNA se desintegra de manera aleatoria a fragmentos mucho más pequeños para así crear una "genoteca" de fragmentos aleatorios. Estos fragmentos desordenados son secuenciados mediante secuenciadores automáticos de DNA y reensamblados en el orden correcto utilizando un programa de cómputo muy poderoso. Un número suficiente de fragmentos es secuenciado con el fin de garantizar la cobertura adecuada del genoma, de tal manera que cuando los fragmentos son ensamblados se obtiene una representación de la mayor parte del genoma libre de espacios excesivos. (Para lograr esto, todo el genoma queda generalmente cubierto de 5 a 8 veces, dejando sin secuenciar únicamente alrededor de 0,1% del DNA total.) Después del ensamblaje de los fragmentos aleatorios por áreas de secuencias traslapadas, cualquier espacio remanente se puede identificar y ocluir. El sofisticado procesamiento de datos permite que éstos se almacenen de la secuencia, donde regiones codificadoras putativas, operones y secuencias reguladoras se pueden identificar. Ya fueron secuenciados los genomas de un número importante de microorganismos (cuadro 7-1). El análisis continuo de los datos de secuencia correspondientes a patógenos humanos importantes, en combinación con estudios acerca de patogénesis molecular, facilitará nuestro entendimiento de cómo estos microorganismos pueden causar enfermedad y, finalmente, conducirá a la elaboración de mejores vacunas y estrategias terapéuticas.

MUTAGÉNESIS DIRIGIDA A UN SITIO

La síntesis química de los oligonucleótidos permite a los investigadores realizar la introducción controlada de sustituciones de bases en una secuencia del DNA. La sustitución específica puede utilizarse para explorar el efecto de una mutación prediseñada en la expresión génica, para explorar la contribución de un aminoácido sustituido en la función de una proteína, o —con base en información previa acerca de



Secuencia: CACGTG

Figura 7-13. Determinación de una secuencia del DNA por el método de Sanger (terminación con didesoxi). El alargamiento enzimático del DNA se interrumpe por inclusión de análogos didesoxi de los trinucleótidos correspondientes a A, C, G y T, de manera separada en mezclas paralelas de reacción. Los grupos resultantes de cadenas cuyo crecimiento se interrumpe se separan en un gel y la secuencia puede deducirse al observar la base que corresponde a cada incremento de la longitud de la cadena.

los resi-
gen. Lo
mutaci-
dan con
porta la
La dob-
zímico
pleta. E
cadena
a una b-
cación
mutante
a partir

La
mación
ción di-
sustituc-
can par-
ducirse
puede c-
nidad
toxicida

ANÁL
SONE

Las son-
nación

Figura 7-
dro), for-
reacción
introduc-
replicativ

los residuos esenciales para la función— para inactivar a un gen. Los oligonucleótidos de cadena única que contengan la mutación especificada se sintetizan químicamente e hibridan con un bacteriófago de DNA de cadena única, el cual porta la secuencia silvestre como un inserto (figura 7-14). La doble cadena parcial de DNA producida se convierte enzimáticamente a la variante replicativa de doble cadena completa. Este DNA, que contiene la secuencia silvestre en una cadena y la secuencia mutante en la otra, se usa para infectar a una bacteria huésped mediante transformación. La replicación da lugar a la segregación del DNA silvestre, y el gen mutante de doble cadena puede aislarse y después clonarse a partir de la variante replicativa del fago.

La síntesis química de oligonucleótidos permite la formación de genes sintéticos que contengan sitios de restricción distribuidos a todo lo largo, los cuales permiten la sustitución modular de las secuencias del DNA que codifican para las proteínas mutantes. De este modo pueden introducirse con facilidad mutaciones múltiples. En principio, puede conservarse una propiedad deseada (como la antigenicidad), mientras que una propiedad indeseable (como la toxicidad) puede eliminarse.

ANÁLISIS CON DNA CLONADO: SONDAS DE HIBRIDACIÓN

Las sondas de hibridación se usan rutinariamente en la clonación del DNA. La secuencia de aminoácidos de una pro-

teína puede utilizarse para deducir la secuencia del DNA a partir de la cual puede construirse una sonda y emplearse para detectar a una colonia bacteriana que contenga el gen clonado. El DNA complementario, o cDNA, codificado por el mRNA, puede utilizarse para detectar al gen que codifica para dicho mRNA. La hibridación del DNA a RNA mediante la técnica de la *Northern blot* puede proporcionar información cuantitativa acerca de la síntesis del RNA. Las secuencias específicas de DNA en los fragmentos de restricción separados en los genes pueden ser revelados mediante *Southern blot*, un método que usa la hibridación del DNA con DNA. Estas técnicas pueden utilizarse para detectar fragmentos de restricción que se traslapan. La clonación de estos fragmentos hace posible aislar regiones flanqueadoras del DNA mediante una técnica conocida como *desplazamiento cromosómico* (figura 7-15). Con el *Western blot*, otra técnica de detección utilizada con frecuencia, se emplean anticuerpos para detectar genes clonados mediante el enlace a sus productos proteínicos.

Las sondas se pueden utilizar en una gran variedad de procedimientos analíticos. Algunas regiones del DNA humano muestran importante variabilidad en la distribución de los sitios de restricción. Esta variabilidad se conoce como *polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción* (RFLP). Las sondas de oligonucleótidos que hibridan con fragmentos RFLP del DNA pueden usarse para seguir al DNA desde una muestra pequeña hasta su donador humano. De esta manera, la técnica es de gran valor en la ciencia forense. Las aplicaciones del RFLP en la medicina incluyen la identificación de las regiones génicas muy

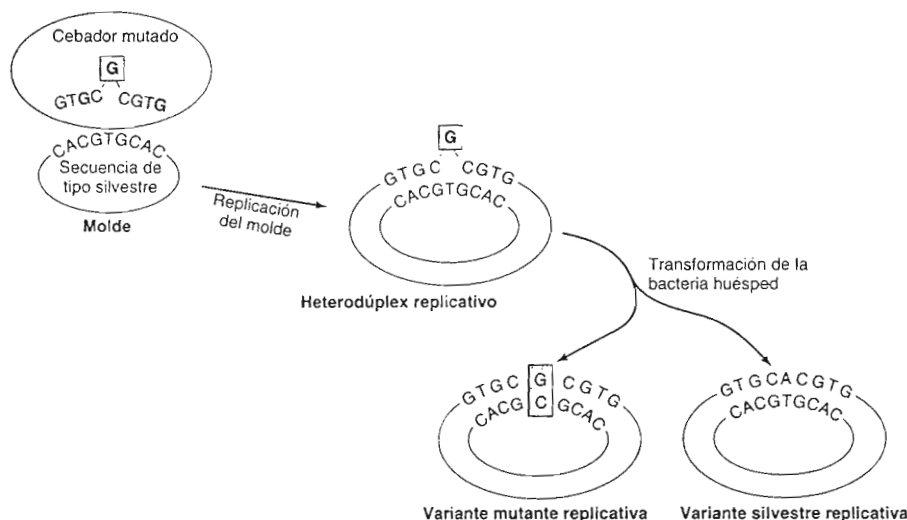
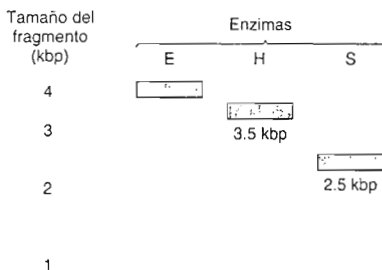


Figura 7-14. Mutagénesis dirigida a un sitio. Un cebador producido por síntesis química, que contiene la mutación G (en recuadro), forma un híbrido con una secuencia silvestre insertada en el DNA proveniente de un fago de cadena única. Se emplean reacciones de polimerización para formar el heterodúplex de cadena doble que contiene la mutación en una de las cadenas. La introducción del heterodúplex en una bacteria huésped, seguida de segregación, produce cepas derivadas que portan variantes replicativas, ya sea con una inserción del tipo silvestre o con una inserción que lleva la mutación diseñada químicamente.

A. Fragmentos restrictivos de hibridación



B. Mapa de restricción

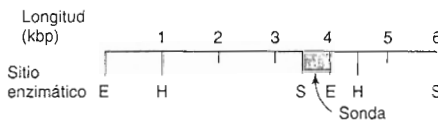


Figura 7-15. Uso de la hibridación para identificar al DNA que flaquea a una sonda proveniente de un fragmento clonado de DNA. El fragmento del DNA y la sonda de 0.5 kbp (kilopares de bases) producidos por las enzimas de restricción S y E se describieron en la figura 7-10. Aquí se observan los sitios respectivos para H en 4.5 kbp y S en 6.0 kbp en el mapa de restricción (B). La presencia de estos sitios puede deducirse por la aparición de un fragmento H de hibridación de 3.5 kbp y un fragmento S de hibridación de 2.5 kbp después de la electroforesis del DNA cromosómico restringido (A). La purificación de fragmentos de este tamaño seguida de clonación y tamizado con la sonda, debe producir una región flanqueante que varía de 4 a 6 kbp en el mapa por restricción.

cercanas a los genes humanos que presentan disfunciones relacionadas con las enfermedades genéticas. Esta información será de gran ayuda en el consejo genético.

Las sondas de DNA también son de gran ayuda para la identificación rápida en las muestras clínicas de microorganismos que son difíciles de hacer crecer en el laboratorio de microbiología. Además, las ampliaciones de la técnica dan la oportunidad de identificar a los agentes patógenos de manera rápida y directamente en los tejidos infectados. Ya se dispone de estudios para la identificación de algunos patógenos específicos (p. ej., *Chlamydia trachomatis*, *Mycobacterium tuberculosis*).

La aplicación de las sondas diagnósticas de DNA requiere considerar: 1) las sondas mismas, 2) los sistemas utilizados para detectar las sondas, 3) los blancos (el DNA al cual las sondas se van a hibridar) y 4) las condiciones de hibridación. Las sondas pueden ser fragmentos de restricción relativamente largos obtenidos de DNA clonado o de los oligonucleótidos complementarios a una región específica del DNA. Las sondas largas pueden proporcionar mayor precisión porque son menos sensibles a los cambios en una sola base en el DNA blanco. Por otra parte, las reacciones

de hibridación ocurren con más rapidez con sondas pequeñas y éstas pueden diseñarse contra regiones conservadas del DNA en las cuales es poco probable que haya ocurrido la sustitución de bases. La amplificación de un blanco mediante PCR, seguida por la detección del producto amplificado después de la hibridación para obtener una sonda, ha demostrado ser más sensible que los métodos de detección directa.

Las técnicas radioquímicas tradicionalmente se han utilizado para detectar sondas en los laboratorios de investigación. Con mayor frecuencia, el DNA se ha marcado con α ^{32}P mediante *nick translation*, un proceso con el cual se introducen roturas o "muescas" en las cadenas del DNA. Los nucleótidos radiactivos se introducen en el DNA por una polimerasa que reemplaza a los nucleótidos en posiciones que comienzan en los sitios de rotura. Por desgracia, la vida media del fosfato radiactivo es solo de dos semanas y la radiactividad implica posibles riesgos en el laboratorio. Estos problemas pueden superarse mediante el uso de una molécula reportera unida covalentemente a la sonda. Esa molécula puede ser una enzima que genera un producto colorido o una molécula relativamente pequeña a la que se une específicamente una proteína después de que se ha realizado la hibridación. La unión de la proteína a la enzima causa un producto colorido, lo que hace evidente a la sonda hibridada.

La preparación del DNA blanco para la hibridación incluye procedimientos que producen la lisis de las células que contengan el DNA y por consiguiente exponen al DNA para la hibridación. Las posibilidades para la hibridación están determinadas por el rigor del procedimiento. El rigor, determinado por las condiciones físicas y químicas, establece el grado de hibridación. Las sondas que contienen relativamente pocos nucleótidos son más sensibles a los cambios en dichas condiciones. En algunos casos, los cambios pueden aprovecharse para controlar el intervalo de microorganismos revelados por hibridación: un grupo biológico amplio que contenga varias sustituciones de nucleótidos puede ser descubierto en condiciones poco estrictas, mientras que la misma sonda puede detectar solamente organismos muy cercanos en condiciones muy rigurosas.

MANIPULACIÓN DEL DNA CLONADO

Las técnicas de ingeniería genética permiten la separación y la expresión completamente independiente de genes asociados con patógenos. Las vacunas preparadas con genes manipulados permiten obtener medidas de seguridad que antes no se habían alcanzado. Por ejemplo, es posible preparar una vacuna contra una cubierta proteínica viral producida en ausencia de algún gen relacionado con funciones replicativas virales: la inoculación de esa vacuna no implicaría riesgo alguno de introducir virus funcionales. Las dificultades potenciales en el desarrollo de estas vacunas derivan de la facilidad con que las mutaciones virales pueden producir variantes genéticas que no sean reconocidas por el sistema de defensa inmunitaria de una persona vacunada. A la larga, las vacunas pueden contener varias proteínas que anticipen la respuesta genética de los patógenos.

CEPAS RECOMBINANTES EN EL AMBIENTE

Avances científicos importantes han provocado a veces reacciones adversas del público, por lo que es prudente considerar las consecuencias potenciales de la ingeniería genética. La preocupación más inmediata son los patógenos conocidos que han sufrido modificaciones genéticas relativamente leves. Estos han sido y deben ser investigados en los laboratorios especialmente diseñados para contenerlos. La necesidad para su contención disminuye después de que los genes para funciones específicas, como las envolturas proteínicas, se separan de los genes relacionados con la replicación o con la toxicidad de un patógeno. En su mayor parte deben conservarse las precauciones frecuentes que se practican en los laboratorios de microbiología, sin más justificación que fomentar hábitos valiosos en caso de que un patógeno potencial entre al laboratorio.

Excepciones interesantes a esta regla son los microorganismos manipulados que pueden proporcionar un beneficio social si se introducen en el ambiente. Muchos de estos microorganismos derivan de bacterias no patógenas que existen naturalmente con una abundancia tan grande como de 105/g de suelo. Las evidencias disponibles sugieren que la depredación y la competencia rápidamente eliminan a las cepas bacterianas manipuladas después de que éstas fueron introducidas en el ambiente. El reto principal parecería ser mantener a los microorganismos manipulados en el ambiente más que eliminarlos.

El ejemplo mejor conocido de microorganismos manipulados son las cepas de *Pseudomonas*, las cuales producen una proteína que favorece la formación de cristales de hielo. El valor de estos microorganismos silvestres es apreciado por los propietarios de pistas para esquiar, quienes han introducido de manera deliberada a la bacteria en el ambiente sin despertar ninguna preocupación del público. Un desafortunado efecto de la introducción de estos microorganismos es que los cristales de hielo pueden dañar las cosechas sensibles, como las de lechugas, durante las estaciones en las que son probables las heladas ligeras. Bacterias mutantes que no forman cristales de hielo fueron diseñadas por los microbiólogos, quienes esperan que los microorganismos mutantes puedan proteger a los cultivos de lechugas al ocupar temporalmente los nichos habitados normalmente por las cepas formadoras de hielo; sin embargo, los intentos para usar a los microorganismos mutantes en los estudios de campo se encontraron con un

rechazo importante y se efectuaron sólo después de largas y costosas esperas legales. Quizá los precedentes legales que surgieron de éstos y otros casos semejantes establecerán las guías para el uso progresivo y benéfico de las técnicas de ingeniería genética y faciliten la determinación de situaciones en las cuales se justifica tomar precauciones extremas.

Preguntas de revisión

1. ¿Las mutaciones en bacterias pueden ocurrir por cuál de los siguientes mecanismos?
 - A. Sustituciones de base
 - B. Supresión
 - C. Inserciones
 - D. Reordenamientos
 - E. Todos los anteriores
2. La forma de intercambio genético en el cual el DNA donado es introducido al receptor por un virus bacteriano es:
 - A. Transformación
 - B. Conjugación
 - C. Transfección
 - D. Transducción
 - E. Transferencia horizontal
3. La forma de intercambio genético en bacterias que es vulnerable a la actividad de la desoxirribonucleasa es
 - A. Transformación
 - B. Conjugación
 - C. Transfección
 - D. Transducción
 - E. Todas las anteriores
4. ¿La replicación de cuál de las siguientes requiere integración física con un replicón bacteriano?
 - A. Bacteriófago con DNA de una cadena
 - B. Bacteriófago con DNA de cadena doble
 - C. Bacteriófago con RNA de una cadena
 - D. Plásmido
 - E. Transposón
5. La formación de un puente copulatorio entre células durante el proceso de conjugación en la *Escherichia coli* requiere:
 - A. Lisis del donador
 - B. Un pelo sexual
 - C. Transferencia de ambas cadenas de DNA
 - D. Una endonucleasa limitante
 - E. Integración de un transposón

Respuestas: 1 = E; 2 = D; 3 = A; 4 = E; 5 = B

REFERENCIAS

Libros

- Alberts B et al.: *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed. Garland, 2002.
- Ausubel FM et al.: *Current Protocols in Molecular Biology*. Wiley, 1987.
- Bainbridge BW: *Genetics of Microbes*, 2nd ed. Chapman & Hall, 1987.
- Berg DE, Howe MM (editors): *Mobile DNA*. American Society for Microbiology, 1989.
- Bushman F: *Lateral DNA Transfer. Mechanisms and Consequences*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2002.

- Charlebois RL (editor): *Organization of the Prokaryotic Genome*. ASM Press, 1999.
- Drlica K, Riley M (editor): *The Bacterial Chromosome*. American Society for Microbiology, 1999.
- Kornberg A, Baker T: *DNA Replication*, 2nd ed. Freeman, 1992.
- Lengler JW, Drews G, Schlegel HG (editors): *Biology of the Prokaryotes*. Blackwell Science, 1990.
- Lewin B: *Genes*, 3rd ed. Wiley, 1987.
- Ptashne M: *A Genetic Switch: Phage Lambda and Higher Organisms*, 2nd ed. Blackwell, 1992.
- Sambrook J, Russell NO: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory, 2001.

- Singleton P, Sainsbury D: *A Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*. 3rd ed. Wiley, 2002.
- Snyder L, Champness W: *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, 1997.

Artículos y revistas

- Condon C: RNA processing and degradation in *Bacillus subtilis*. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003;67:157.
- Grohmann E, Muuth G, Espinosa M: Conjugative plasmid transfer in gram-positive bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003;67:157.
- Koonin EV, Makarova KS, Aravind L: Horizontal gene transfer in prokaryotes: Quantification and classification. *Annu Rev Microbiol* 2001;55:709.
- Libert CA, Hall RM, Summers AO: Transposon TnK27, flagship of the floating genome. *Microbiol Mol Biol Rev* 1999;63:507.
- Murray NE: Type I restriction systems: Sophisticated molecular machines (a legacy of Bertani and Weigle). *Microbiol Mol Biol Rev* 2000;64:412.
- Rawlings DE, Tietze E: Comparative biology of IncQ and IncQ-like plasmids. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001;65:481.
- Rhodijs V *et al.*: Impact of genomic technologies on studies of bacterial gene expression. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:117.
- Riley MA, Wertz JE: Bacteriocins: Evolution, ecology, and application. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:117.
- van Belkum A *et al.*: Short-sequence DNA repeats in prokaryotic genomes. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:275.

SECCIÓN II

Inmunología

Inmunología

Roderick Nairn, PhD*

El estudio de la inmunología, un amplio campo que abarca tanto la investigación básica como las aplicaciones clínicas, tiene que ver con los mecanismos de defensa del huésped a entidades extrañas (no propias) conocidas como antígenos, con el reconocimiento de moléculas antigénicas y con las funciones de defensa del huésped mediadas por la inmunidad celular, particularmente aquellas relacionadas con la inmunidad a la enfermedad, la hipersensibilidad (incluso la alergia), la autoinmunidad, la inmunodeficiencia y los trasplantes. Este capítulo presenta los principios básicos de la inmunología, en particular los que se relacionan con la infección. Para exposiciones más detalladas se remite al lector a textos de inmunología.

* Decano Senior asociado para los Asuntos Académicos; Profesor y Catedrático del Departamento de Microbiología e Inmunología Médica, Escuela de Medicina de la Universidad Creighton, Omaha.

INMUNIDAD Y RESPUESTA INMUNITARIA

Las respuestas inmunitarias pueden ser innatas (no adaptativas) o adaptativas (adquiridas) (figura 8-1).

Inmunidad natural

La inmunidad innata es la resistencia que no se adquiere a través del contacto con una entidad no propia (extraña) conocida como antígeno. Es inespecífica e incluye barreras contra agentes infecciosos: por ejemplo, la piel y las membranas, los fagocitos, los mediadores de la inflamación y los componentes del complemento. Puede variar con la edad y con la actividad hormonal o metabólica.

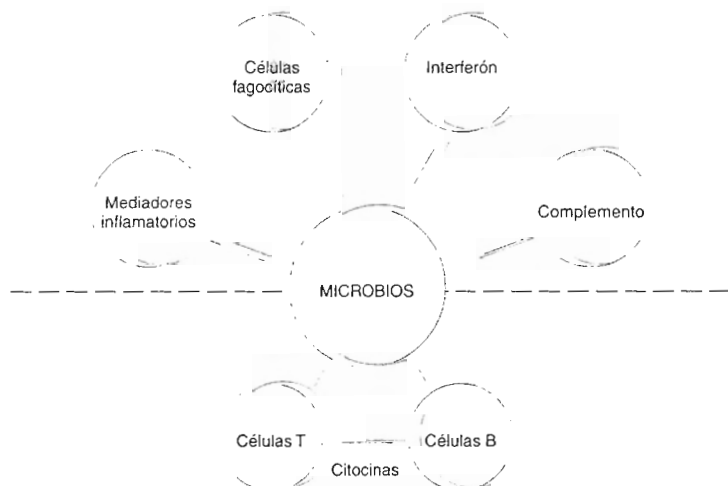


Figura 8-1. *Arriba*: el sistema inmunológico innato se caracteriza por barreras fisiológicas para entrar a organismos patógenos y respuestas muy rápidas de defensa del huésped. *Abajo*: el sistema inmunológico adquirido consiste en el reconocimiento de antígeno celular y tiene la capacidad de memoria de largo plazo.

Inmunidad adquirida

La inmunidad adquirida, que se presenta después de la exposición a un antígeno (p. ej., un agente infeccioso), es específica y está mediada por anticuerpos o células linfoides. Puede ser pasiva o activa.

A. Inmunidad pasiva

Esta se transmite por anticuerpos o linfocitos preformados en otro huésped. La administración pasiva de anticuerpos (en antisueros) contra ciertos virus (p. ej. hepatitis B) puede ser útil durante el periodo de incubación para limitar la multiplicación viral, por ejemplo, después de una lesión con aguja a alguien que no ha sido vacunado. La ventaja principal de la inmunización pasiva con anticuerpos preformados es la disponibilidad inmediata de grandes cantidades de anticuerpos; las desventajas son un periodo de vida corto de esos anticuerpos y las posibles reacciones de hipersensibilidad si se administran anticuerpos (inmunoglobulinas) de otras especies.

B. Inmunidad activa

La inmunidad activa se induce después del contacto con antígenos extraños (p. ej., microorganismos o sus productos). Este contacto puede consistir en: infección clínica o subclínica, inmunización con agentes infecciosos vivos o muertos o sus antígenos, exposición a productos microbianos (p. ej., toxinas, toxoides) o por trasplante de células extrañas. En todos estos casos el huésped produce anticuerpos activamente y las células linfoides adquieren la capacidad de responder a los antígenos. La ventaja de la inmunidad activa es una resistencia de larga duración (basada en la memoria de contactos previos con el antígeno, así como en la capacidad de responder mucho más rápido y con mayor intensidad en contactos subsecuentes con el mismo antígeno); las desventajas incluyen la iniciación lenta de la resistencia y la necesidad de contacto prolongado o repetido con el antígeno.

MECANISMOS DE DEFENSA INESPECÍFICOS

Barreras fisiológicas en la puerta de entrada

A. Piel

Pocos microorganismos son capaces de penetrar por la piel intacta, pero muchos pueden entrar a las glándulas sebáceas, sudoríparas y a los folículos pilosos, y establecerse allí. Las secreciones sebáceas y el sudor, gracias a su pH ácido y a ciertas sustancias químicas (especialmente ácidos grasos), tienen propiedades antimicrobianas que tienden a eliminar a los microorganismos patógenos. La lisozima, una enzima que disuelve algunas paredes celulares bacterianas, está presente en la piel y puede ayudar en la protección contra algunos microorganismos. La lisozima también está presente en las lágrimas y en las secreciones respiratorias y cervicales.

La resistencia de la piel puede variar con la edad. Por ejemplo, los niños son muy susceptibles a la infección micótica. Después de la pubertad, la resistencia a esos hongos se incrementa notablemente por un mayor contenido de ácidos grasos saturados en las secreciones sebáceas.

B. Mucosas

En el aparato respiratorio, una película de moco cubre su superficie y las células ciliadas constantemente la desplazan hacia arriba en dirección a los orificios naturales. Las bacterias tienden a adherirse a esta película. Además, el moco y las lágrimas contienen lisozima y otras sustancias con propiedades antimicrobianas. Para algunos microorganismos, el primer paso en la infección es la adhesión a las células superficiales epiteliales por medio de proteínas adhesivas de la superficie bacteriana (p. ej., los *pilis* del gonococo y de la *Escherichia coli*). Si estas células tienen anticuerpos IgA en sus superficies —un mecanismo de resistencia del huésped— puede evitarse la adhesión. (Los microorganismos pueden superar este mecanismo de resistencia al fragmentar a los anticuerpos con una proteasa.)

Cuando los microorganismos entran al cuerpo a través de las mucosas, tienden a ser capturados por los fagocitos y son transportados hacia los conductos linfáticos regionales que los llevan hasta los ganglios linfáticos. Los fagocitos actúan como una barrera para la diseminación de gran número de bacterias. El aparato mucociliar respiratorio para la remoción de bacterias es auxiliado por los macrófagos pulmonares. Este sistema de defensa total puede suprimirse, en su conjunto, por el abuso en el consumo de alcohol, narcóticos, humo de cigarrillos, hipoxia, acidosis y otros factores nocivos. Existen mecanismos de protección especial en el aparato respiratorio, que incluyen a los *pilis* en los orificios nasales y al reflejo de la tos que evita la aspiración.

En el aparato gastrointestinal funcionan varios sistemas para inactivar a las bacterias: la saliva contiene numerosas enzimas hidrolíticas; la acidez del estómago destruye a muchas bacterias ingeridas (p. ej., *V. cholerae*); y el intestino delgado contiene múltiples enzimas proteolíticas y macrófagos activos.

Debe recordarse que la mayor parte de las mucosas tienen una flora microbiana normal constante que se opone al establecimiento de microorganismos patógenos ("interferencia bacteriana") y tiene funciones importantes. Por ejemplo, en la vagina, los lactobacilos normales mantienen un pH ácido para inhibir así el establecimiento de levaduras y de bacterias anaerobias y gramnegativas.

Mecanismos inmunitarios innatos

Cuando empieza la respuesta a la infección (primeras horas), el atrapamiento de los microorganismos por macrófagos (fagocitosis) y la activación de la vía alterna del complemento (véanse figura 8-9 y los comentarios subsecuentes en este capítulo) son las respuestas importantes e inespecíficas del huésped. La siguiente línea de defensa incluye algunas respuestas que son aún no adaptativas —por ejemplo, liberación de citocinas de los macrófagos— y la liberación de otros mediadores que inician la respuesta inflamatoria. Ésta ocurre con rapidez y suele servir para detener la diseminación del patógeno hasta que se inicie una respuesta específica adquirida. Sin embargo, algunos microorganismos han encontrado recursos para evadir estas respuestas inespecíficas del huésped; por ejemplo, las bacterias (neumococos) con cápsulas recubiertas en polisacáridos pueden evadir la fagocitosis, y algunos virus (como los poxvirus)

producen homólogos de los receptores de citocinas que funcionan como antagonistas competitivos de éstas, lo cual hace que la respuesta inmunitaria sea lo suficientemente lenta para que el microorganismo se establezca en un nicho.

A. Sistema reticuloendotelial

Este sistema incluye a las células fagocíticas mononucleares presentes en sangre, tejido linfoide, hígado, bazo, médula ósea, pulmones y otros tejidos, las cuales son eficientes para captar y remover partículas de los conductos linfáticos y la corriente sanguínea. Incluye a las células presentes en los sinusoides sanguíneos y linfáticos (células de Kupffer en el hígado) e histiocitos en los tejidos (macrófagos). Una función importante del bazo, médula ósea y otros órganos reticuloendoteliales es el filtrado de microorganismos de la sangre. Los pacientes cuyos bazos se han extirpado o no funcionan (p. ej., en la enfermedad de células falciformes) a menudo sufren sepsis bacteriana, particularmente por neumococo y salmonela. La fagocitosis por células reticuloendoteliales se incrementa por las opsoninas. Cuando los macrófagos reconocen componentes microbianos, son estimulados para liberar citocinas que producen el reclutamiento de más células fagocíticas en el sitio de la infección.

B. Vías alternativas de la activación del complemento

El sistema de complemento, un grupo de proteínas que estimula la función tanto de las respuestas adaptativas como de las innatas (no adaptativas) a la infección, se comenta más adelante en este capítulo. Una vía de la activación del complemento, la vía alterna, es muy importante como primera línea de defensa contra la infección por microorganismos. Como se muestra en la figura 8-9, la vía alterna del complemento puede activarse por superficies microbianas y continuar en ausencia de anticuerpos. Las proteínas del complemento tienen varias propiedades antimicrobianas que contribuyen a la defensa del huésped, incluso a la opsonización, a la lisis de bacterias y a la amplificación de la respuesta inflamatoria a través de las anafilatoxinas C5a, C4a y C3a.

Algunos microorganismos han desarrollado mecanismos que interfieren con el sistema del complemento y de esa manera evaden la respuesta inmunitaria. Por ejemplo, el virus de la vaccinia codifica para una proteína soluble que funciona como una proteína de control del complemento y bloquea la cascada de éste en varios sitios, incluso la formación de C3b tanto por la vía típica como en la alterna.

C. Fagocitosis

Durante la infección bacteriana es común que se incremente el número de fagocitos circulantes. Las principales funciones de las células fagocíticas son la migración, la quimiotaxis, la ingestión y la destrucción microbianas. Los microorganismos (y otras partículas) que entran a los linfáticos, pulmón, médula ósea o a la sangre son atrapados por cualesquiera de las variantes de las células fagocíticas. Entre éstas están los leucocitos polimorfonucleares (granulocitos), monocitos fagocíticos (macrófagos) y macrófagos fijos del sistema reticuloendotelial (véase antes). Muchos microorganismos elaboran factores quimiotácticos que atraen a células fagocíticas. Los defectos en la quimiotaxis pueden ser los responsables de la hipersusceptibilidad a ciertas in-

fecciones; dichos defectos pueden ser adquiridos o congénitos. La fagocitosis puede ocurrir sin anticuerpos séricos, en particular si le ayuda la estructura del tejido. Por tanto, las células fagocíticas son ineficientes en espacios grandes, lisos y abiertos, como pleura, pericardio o articulaciones, pero pueden ser más eficaces en la ingestión de microorganismos atrapados en pequeños espacios tisulares (p. ej., alveolos) o en superficies rugosas. Esta "fagocitosis de superficie" ocurre al inicio del proceso infeccioso, antes de que los anticuerpos estén disponibles.

1. **Factores que afectan a la fagocitosis:** la fagocitosis es más eficiente en presencia de anticuerpos (opsoninas) que cubren la superficie de la bacteria y facilitan su ingestión por los fagocitos. La opsonización puede ocurrir mediante tres mecanismos: 1) los anticuerpos solos pueden actuar como opsoninas; 2) los anticuerpos, más el antígeno, pueden activar la vía típica del complemento para producir opsoninas; y 3) la opsonina puede producirse por un sistema termolábil en el que la inmunoglobulina u otros factores activan al C3 a través de la vía alterna (figura 8-9). Los macrófagos tienen receptores en sus membranas para la porción Fc del anticuerpo y para el componente C3 del complemento. Estos receptores ayudan a la fagocitosis de partículas cubiertas con anticuerpos.

La ingestión de partículas extrañas (p. ej., microorganismos) tiene los siguientes efectos en los granulocitos fagocíticos: 1) se incrementa el consumo de oxígeno y la producción del anión superóxido (O_2^-) y la liberación de H_2O_2 ; 2) aumenta la glucólisis por la vía de la derivación de la hexosa monofosfato; y 3) los lisosomas se rompen y sus enzimas hidrolíticas se descargan en la vacuola fagocítica para formar una vacuola digestiva o "fagolisosoma". Morfológicamente, este proceso se aprecia como la "desgranulación" de granulocitos. La inhibición de estos mecanismos es una parte importante del proceso infeccioso, o patología, de la **neumonía por Legionella**. En el síndrome de Chédiak-Higashi, la mayor parte de los microorganismos se fagocitan de manera normal, pero la destrucción intracelular no sucede porque un defecto en una proteína citoplásmica causa la fusión anormal de la membrana de los gránulos; esto lleva a la disfunción lisosomal y a infecciones recurrentes de bacterias piógenas.

2. **Granulocitos (leucocitos polimorfonucleares o neutrófilos):** Los granulocitos contienen gránulos compuestos de lisosomas, otras enzimas hidrolíticas, varias proteínas catiónicas, defensinas (componentes antimicrobianos), lactoferrina y óxidos de nitrógeno tóxicos.

Los mecanismos funcionales de destrucción intracelular de los microorganismos en los granulocitos fagocíticos no se conocen en su totalidad. Incluyen mecanismos no oxidativos (p. ej., activación de enzimas hidrolíticas en contacto con microorganismos, acción de péptidos antimicrobianos) y oxidativos. Entre los últimos se han implicado a los siguientes:

a. Incremento en la actividad oxidativa que produce una acumulación de H_2O_2 . En presencia de cofactores oxidables (haluros como yodo, bromo, cloruro), un pH ácido y la enzima mieloperoxidasa, el H_2O_2

se convierte a HOCl, el cual es un eficaz antimicrobiano.

- b. En los granulocitos normales se genera el anión superóxido (O_2^-) cuando las partículas son fagocitadas. El radical superóxido puede ser directamente mortal para muchos microorganismos. Los niños que sufren enfermedad granulomatosa crónica tienen granulocitos que ingieren microbios normalmente, pero tienen una deficiencia genética del sistema NADPH oxidasa requerido para producir el anión superóxido, tan importante en la actividad antimicrobiana de los fagocitos. Este defecto puede ser responsable de la limitada capacidad de destrucción de los granulocitos relacionada con dicha enfermedad, y explica la susceptibilidad de estos pacientes a las infecciones, especialmente estafilocócicas.

Cuando se suprime la médula ósea de los pacientes por enfermedades, fármacos o radiación, disminuye el número de granulocitos funcionales. Si la cantidad de granulocitos cae por debajo de 500 neutrófilos polimorfonucleares por microlitro, el paciente es muy susceptible a infecciones oportunistas por bacterias.

3. **Macrófagos (monocitos fagocíticos circulantes):** los macrófagos derivan de la línea celular de los monocitos en la médula ósea, tienen un promedio de vida más largo que los granulocitos fagocíticos circulantes y pueden continuar su actividad en un pH más bajo.

Los macrófagos en la sangre pueden activarse por varios estimulantes o "activadores", como los microbios y sus productos, complejos antígeno anticuerpo, inflamación, linfocitos T sensibilizados, citocinas (véase más adelante) y la lesión misma. Los macrófagos activados tienen una cantidad mayor de lisosomas que producen y liberan la interleucina-1, que tiene un rango muy amplio de actividad en la inflamación. La interleucina-1 participa en la producción de la fiebre y en la activación de las células linfoides, lo que produce la liberación de otras citocinas.

La destrucción intracelular en los macrófagos tal vez incluye mecanismos similares a los descritos antes para los granulocitos.

D. Respuesta inflamatoria

Cualquier lesión a los tejidos, como la subsecuente al establecimiento y multiplicación de los microorganismos, despierta una respuesta inflamatoria. La respuesta inmunitaria innata de los macrófagos incluye la liberación de **citocinas** como la interleucina-1 (IL-1) y el factor α de necrosis tumoral (TNF α). Los otros mediadores liberados por los macrófagos activados son las prostaglandinas y los leucotrienos. Dichos mediadores inflamatorios comienzan a inducir cambios en los vasos sanguíneos locales. Esto comienza con la dilatación de las arteriolas locales y de los capilares, a través de los cuales escapa el plasma. El líquido del edema se acumula en el área de la lesión y la fibrina forma una red que ocluye los conductos linfáticos, limitando la diseminación de los microorganismos. Un segundo efecto de los mediadores es inducir cambios en la expresión de varias moléculas de adhesión en las células endoteliales y en los leucocitos. Las moléculas de adhesión, como las selectinas y las inte-

grinas, producen la adhesión de los leucocitos a las células endoteliales de los vasos sanguíneos y, por consiguiente, propician el movimiento de los leucocitos a través de la pared. De esta manera, los leucocitos polimorfonucleares se adhieren a las paredes de los capilares y luego migran al exterior (extravasación) hacia el foco inflamatorio. Esta migración (quimiotaxis) está estimulada por sustancias del exudado inflamatorio, las cuales incluyen algunos pequeños polipéptidos llamados **quimiocinas**. Estas se sintetizan por las células endoteliales y los macrófagos. La IL-8 es un ejemplo de una quimiocina (cuadro 8-3). Estos compuestos funcionan principalmente para reclutar monocitos y neutrófilos de la sangre hacia los sitios de infección. Los fagocitos atrapan a los microorganismos y se inicia la digestión intracelular. Pronto el pH del área inflamada se vuelve más ácido y las proteasas celulares inducen la lisis de los leucocitos. Los macrófagos mononucleares arriban al sitio y, a su vez, fagocitan los restos de los leucocitos, así como a los microorganismos y facilitan el camino para la resolución del proceso inflamatorio local.

Las citocinas y los derivados del ácido araquidónico, los cuales incluyen a las prostaglandinas y a los leucotrienos, son mediadores de la respuesta inflamatoria. Los fármacos que inhiben la síntesis de las prostaglandinas (al bloquear a la enzima ciclooxigenasa) actúan como antiinflamatorios.

E. Fiebre

La fiebre es la manifestación sistémica más común de la respuesta inflamatoria y un síntoma importante de las enfermedades infecciosas.

1. **Posibles mecanismos de producción de fiebre:** el regulador final de la temperatura del cuerpo es el centro termorregulador localizado en el hipotálamo, el cual está sujeto a estímulos físicos y químicos. La lesión mecánica directa o la aplicación de sustancias químicas a estos centros produce la fiebre. Sin embargo, ninguna de estas maneras obvias de estimulación está presente en los diversos tipos de fiebre relacionada con infección, neoplasias, hipersensibilidad y otras causas de inflamación.

Entre las sustancias capaces de inducir fiebre (pirógenos) están las endotoxinas de bacterias gramnegativas y las citocinas liberadas de las células linfoides, como la interleucina-1.

Varios activadores pueden actuar sobre los fagocitos mononucleares y otras células e inducirlos a liberar interleucina-1. Entre estos activadores se encuentran los microbios y sus productos: toxinas, incluso endotoxinas; complejos antígeno-anticuerpo; procesos inflamatorios y muchos otros. La interleucina-1 viaja por la sangre al centro termorregulador en el hipotálamo, en donde se inician las respuestas fisiológicas de las que surge la fiebre (p. ej., incremento en la producción de calor, reducción de su pérdida). Otros efectos de las interleucinas se mencionan posteriormente.

Las **citocinas** son pequeñas proteínas solubles producidas por una célula que influye en otras. Estas moléculas tienen propiedades diversas; por ejemplo, la interleucina-1 promueve la proliferación de los linfocitos además de inducir fiebre, y la interleucina-2, producida por las células T, causa proliferación de éstas y tiene

muchas otras funciones inmunomoduladoras. Estas moléculas se describen más adelante en este capítulo.

2. **Efectos benéficos de la fiebre:** en ciertos casos es posible demostrar algunos efectos benéficos de la fiebre en el control de la infección. Por ejemplo, la producción de anticuerpos y la proliferación de células T son más eficientes a mayor temperatura corporal que en la normal. Las lagartijas poiquilotérmicas pueden resistir la infección bacteriana en temperaturas ambientales elevadas, pero mueren de la misma infección en un ambiente frío. Sin embargo, en los humanos no se le pueden atribuir a la fiebre beneficios consistentes para el control de la infección. La supresión de la fiebre mediante fármacos (como aspirinas) no es nociva durante las infecciones, y hace que el paciente febril se sienta más cómodo.

F. Interferones

La infección viral induce la expresión de proteínas antivirales conocidas como **interferones**. Estas proteínas, llamadas interferón α (IFN α) e interferón β (IFN β), son diferentes del interferón γ (IFN γ) producido por linfocitos T activados. Los interferones α y β ayudan al control de la replicación viral al inhibir la síntesis de proteínas en las células.

G. Células asesinas naturales (NK)

Las células asesinas naturales representan a una población de linfocitos funcionalmente distinta. Estas células participan en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC, del inglés *antibody dependent cellular cytotoxicity*) y tienen una función en las fases tempranas de la infección con herpesvirus y otros patógenos intracelulares. Tienen el aspecto de linfocitos grandes, granulares y morfológicamente parecidos a la célula T. No expresan receptores específicos para antígeno. Presentan dos tipos de receptores de superficie, incluyendo un "receptor de activación", que reconoce ligandos de carbohidratos, y un "receptor de inhibición", que reconoce moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC, del inglés *major histocompatibility complex*) clase I. Estas células pueden lisar células blanco que han sufrido transformación maligna y pueden tener una participación en la vigilancia inmunitaria en contra del establecimiento de tumores. Pueden destruir ciertas células infectadas por virus con niveles alterados de moléculas MHC clase I. La acción única de las células NK se estimula por grandes concentraciones de interferones α y β .

MECANISMOS DE DEFENSA ESPECÍFICOS DEL HUÉSPED

Respuesta adquirida

La respuesta adquirida puede ser mediada por anticuerpos (humoral), por células (celular) o por ambos. El encuentro con un agente microbiano o viral habitualmente inicia una compleja variedad de respuestas. Aquí se da un panorama general de ellas y los detalles se presentan posteriormente en este capítulo.

A la entrada de un patógeno potencial en el huésped, y después de la interacción con el sistema de defensa no

adaptativo ya descrito, su o sus principales antígenos son captados por las células presentadoras de antígenos; por ejemplo, macrófagos. Estos antígenos extraños reaparecen sobre la superficie del macrófago en forma de complejos con proteínas codificadas por el MHC, y son presentados a clones de linfocitos T. Los complejos MHC-antígenos son reconocidos por receptores específicos en la superficie de las células T, y estas células producen entonces diversas citocinas que inducen la proliferación clonal. Las dos ramas de la respuesta inmunitaria (mediada por células y mediada por anticuerpos) se desarrollan conjuntamente.

En la rama **mediada por anticuerpos**, los linfocitos T colaboradores (CD4) reconocen a los antígenos del patógeno que forman complejos con las proteínas del MHC clase II en la superficie de las células presentadoras de antígenos (macrófagos o células B) y producen citocinas que activan a las células B para que expresen anticuerpos que se unan específicamente al antígeno. Las células B sufren proliferación clonal y se diferencian para formar células plasmáticas, las cuales producen inmunoglobulinas (anticuerpos) específicas. Las principales funciones de defensa de los anticuerpos en el huésped incluyen la neutralización de toxinas y virus y la opsonización (recubierta) del patógeno, que facilita su captación por células fagocíticas. La defensa mediada por anticuerpos es importante contra patógenos que producen toxinas (p. ej., *Clostridium tetani*) o tienen cápsulas de polisacárido que interfieren con la fagocitosis (p. ej., el neumococo); se presenta principalmente con los patógenos extracelulares y sus toxinas.

En la inmunidad **mediada por células**, los complejos antígeno-MHC clase II son reconocidos por los linfocitos T colaboradores (CD4), mientras que los complejos antígeno-MHC clase I son reconocidos por los linfocitos T citotóxicos (CD8). Cada clase de células T produce citocinas, se activa y se multiplica por proliferación clonal.

La actividad de las células T **colaboradoras**, además de estimular a las células B para producir anticuerpos, promueve el desarrollo de hipersensibilidad tardía y, por consiguiente, también participa en la defensa contra agentes intracelulares, incluso bacterias (p. ej., micobacterias), hongos, protozoarios y algunos virus. La actividad de la célula T **citotóxica** se orienta principalmente a la destrucción de células en injertos de tejidos, de células tumorales o infectadas por algunos virus. De esta manera, las células T se utilizan principalmente para activar respuestas de células B y para hacer frente a patógenos intracelulares.

La figura 8-1 resume los mecanismos de la defensa adquirida e innata del huésped utilizados para combatir a los microorganismos. El resultado final de una inmunidad efectiva es la resistencia del huésped a los microbios y a otros patógenos, así como a las células extrañas. En contraste, la inmunidad defectuosa se manifiesta como una excesiva susceptibilidad a tales patógenos o tumores. Ejemplos específicos se presentan más adelante.

Antígenos

Las características de los antígenos que principalmente determinan su inmunogenicidad en la respuesta inmunitaria son las siguientes:

A. Carácter de extraño (diferente de lo "propio")

En general, las moléculas reconocidas como "propias" no son inmunógenas; para que lo sean, las moléculas deben ser reconocidas como "extrañas".

B. Tamaño molecular

Por lo general, los inmunógenos más potentes son proteínas grandes. Las moléculas con un peso molecular menor de 10 000 son inmunógenos débiles y las muy pequeñas (aminoácidos) no lo son. Algunas moléculas pequeñas (p. ej., haptenos) llegan a ser inmunógenos solamente cuando se unen a una proteína transportadora.

C. Complejidad química y estructural

Se requiere cierta complejidad química; por ejemplo, los aminoácidos homopolímeros son menos inmunógenos que los heteropolímeros, que contienen 2 o 3 diferentes aminoácidos.

D. Determinantes antigénicos (epitopos)

La unidad más pequeña de un antígeno complejo capaz de unirse a un anticuerpo se conoce como determinante antigénico o epitopo. Un antígeno puede tener uno o más determinantes. En general, un determinante tiene el tamaño aproximado de cinco aminoácidos o azúcares.

E. Constitución genética del huésped

Dos cepas de la misma especie de un animal pueden responder de manera diferente al mismo antígeno debido a una distinta composición en los genes de la respuesta inmunitaria.

F. Dosis, ruta y momento de la administración del antígeno

Como el grado de la respuesta inmunitaria depende de la cantidad del antígeno administrado, ésta puede mejorarse al definir con cuidado la dosis (incluso el número de dosis), la vía y el momento de la administración (incluso los intervalos entre las dosis).

Es posible incrementar la inmunogenicidad de una sustancia al mezclarla con un adyuvante. Los adyuvantes son sustancias que estimulan la respuesta inmunitaria (p. ej., al facilitar su captación por las células presentadoras de antígenos).

Bases celulares de la respuesta inmunitaria

La capacidad para responder a estímulos inmunitarios reside principalmente en las células linfoides. Durante el desarrollo embrionario, las precursoras de las células hemáticas se encuentran en el hígado fetal y en otros tejidos; en la vida posnatal, las células progenitoras residen en la médula ósea. Éstas se pueden diferenciar en varias formas. En el hígado y en la médula ósea se pueden diferenciar en células de la serie de eritrocitos o en células de la serie linfoides. Las células progenitoras linfoides evolucionan en dos poblaciones principales de linfocitos, las células B y las células T.

A. Células B

Las células B son linfocitos que se desarrollan en la médula ósea en los mamíferos, y en las aves lo hacen en la bolsa de Fabricio, un apéndice del intestino. Estas células reacom-

dan sus genes de inmunoglobulina y expresan en su superficie celular un receptor único para el antígeno. En este punto, migran a un órgano linfoides secundario (p. ej., el bazo) y pueden activarse por el encuentro con un antígeno para convertirse en células plasmáticas secretoras de anticuerpos.

B. Células T

Las células T son linfocitos que requieren maduración en el timo y forman muchas subclases con funciones específicas. Son el origen de la inmunidad mediada por células comentada adelante.

Algunas células linfocíticas (p. ej., las células asesinas naturales; véase antes) no tienen las características de las células B o T, pero tienen funciones inmunitarias importantes. La figura 8-2 presenta una visión general de los linfocitos inmunitariamente activos y sus interacciones.

MOLÉCULAS DE RECONOCIMIENTO DEL ANTÍGENO

Para que el sistema inmunitario pueda responder a lo que no es propio, por ejemplo, antígenos extraños, tiene que desarrollarse un sistema de reconocimiento capaz de distinguir con precisión entre lo propio y lo que no lo es. En la siguiente sección de este capítulo se revisan las moléculas utilizadas para el reconocimiento de antígenos extraños. Primero se analizarán la estructura y la función de los anticuerpos, y los productos solubles de reconocimiento de los linfocitos B. Después se revisarán algunos receptores de membrana para antígenos, el receptor de células B para antígeno, el receptor de células T específico para antígeno, y los productos del complejo principal de histocompatibilidad (MHC).

ANTICUERPOS

Los anticuerpos (inmunoglobulinas) se forman por linfocitos B. Cada persona tiene una gran reserva de linfocitos B diferentes (aproximadamente 10^{11}), con un promedio de vida de días o semanas y se forman en la médula ósea, ganglios linfáticos y tejidos linfoides relacionados con el intestino (p. ej., amígdalas o apéndice).

Las células B despliegan moléculas de inmunoglobulina (10^5 /célula) en su superficie que sirven como receptores para un antígeno específico, por lo que cada célula B puede responder solamente a un antígeno o a un grupo de antígenos muy parecidos. Todas las células B inmaduras llevan inmunoglobulinas IgM en su superficie y la mayor parte también tiene IgD. Además, las células B tienen receptores de superficie para la porción Fc de las inmunoglobulinas y para varios componentes del complemento.

Un antígeno interactúa con el linfocito B que logre un mejor "acoplamiento" gracias a su inmunoglobulina receptora de superficie. El antígeno se une a este receptor y la célula B se estimula para dividirse y formar una clona (selección clonal). Estas células B seleccionadas pronto se convierten en células plasmáticas y secretan anticuerpos. Como

Médicos
Ós
Células
progenitoras

cada persona
rentes de
unión de
nante ant
El p
citosis de
sentadora
las cuales
activadas
B que por
ajusta al
ciarse en
anticuerpo
lulas de al
ticas sinte
que la tra

Estructura

Los antic
pépticam
Represent
Los
a un comp
que son fo

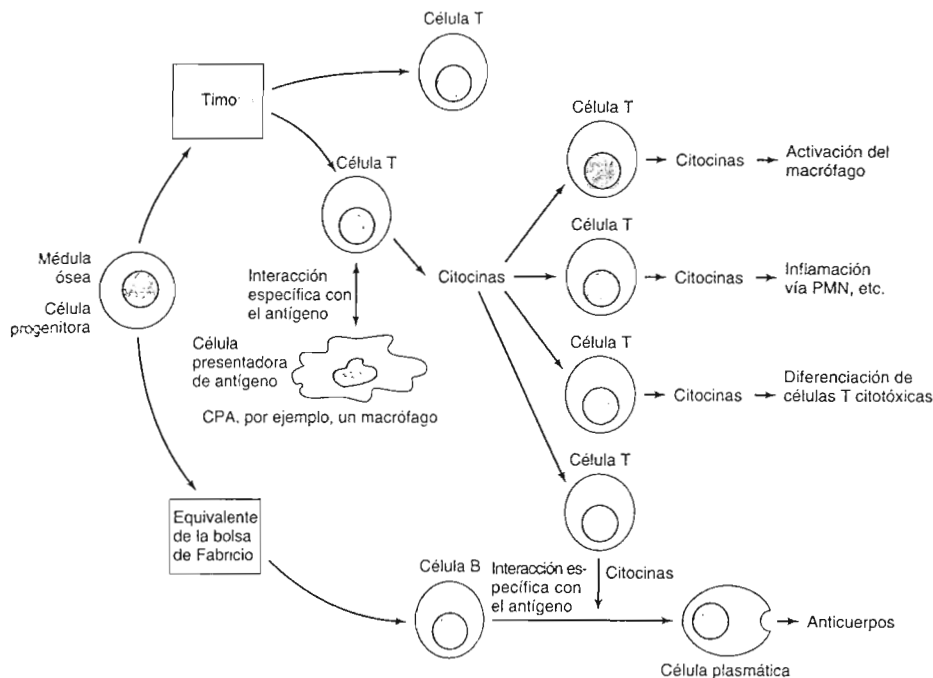


Figura 8-2. Diagrama de las interacciones celulares en la respuesta inmunitaria.

cada persona puede tener alrededor de 10^{11} moléculas diferentes de anticuerpos, sobre la célula B existe un sitio de unión del antígeno que se ajusta a casi cualquier determinante antigénico.

El paso inicial en la formación de anticuerpos es la fagocitosis del antígeno, que comúnmente realizan las células presentadoras de antígenos (en especial macrófagos o células B), las cuales lo procesan y presentan a las células T. Estas células activadas interactúan entonces con las células B. Las células B que portan a la inmunoglobulina de superficie que mejor se ajusta al antígeno son estimuladas para proliferar y diferenciarse en células plasmáticas (figura 8-2); éstas forman los anticuerpos "proteínicos" específicos o se diferencian en células de memoria de larga supervivencia. Las células plasmáticas sintetizan una inmunoglobulina de la misma especificidad que la transportada por las células B precursoras.

Estructura y función del anticuerpo

Los anticuerpos son inmunoglobulinas que reaccionan específicamente con el antígeno que estimuló su producción. Representan alrededor de 20% de las proteínas plasmáticas.

Los anticuerpos producidos en un animal en respuesta a un complejo antigénico único son heterogéneos debido a que son formados por diferentes clones de células; cada una

expresa un anticuerpo que reacciona con un determinante antigénico diferente en el antígeno. Se dice que estos anticuerpos son **policlonales**. Los anticuerpos que provienen de una sola clona de células, por ejemplo, en un tumor de células plasmáticas (mieloma), son homogéneos y se conocen como **monoclonales**, y pueden producirse al fusionar las células del mieloma con un linfocito productor de anticuerpos. Estos **hibridomas** producen *in vitro* cantidades prácticamente ilimitadas de anticuerpos monoclonales. Del estudio de estos últimos se ha obtenido importante información acerca de la estructura y de la función de los anticuerpos.

Todas las moléculas de inmunoglobulina están construidas por cadenas de polipéptidos ligeras y pesadas. Los términos ligero y pesado se refieren al peso molecular, es decir, las cadenas ligeras tienen un peso molecular de aproximadamente 25 000, mientras que las cadenas pesadas tienen un peso cercano a 50 000. Las cadenas ligeras (L) son de uno de dos tipos, κ (kappa) o λ (lambda); clasificación que se basa en las diferencias en los aminoácidos de sus regiones constantes. Ambos tipos existen en todas las clases de inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA, IgE, e IgD), pero cualquier molécula de inmunoglobulina contiene solamente un tipo de cadena L. La porción terminal amino de cada cadena L contiene parte del sitio de unión con el antígeno. Las **cadena pesadas** (H) son diferentes para cada una de las cinco clases de inmunoglobulinas y se designan como γ (gamma),

μ (mu), α (alfa), δ (delta) y ϵ (épsilon) (cuadro 8-1). La porción terminal amino de cada cadena H participa del sitio de unión con el antígeno; el otro extremo (carboxilo) forma el fragmento Fc que tiene varias actividades biológicas (p. ej., activación del complemento y unión con receptores de la superficie celular).

Una molécula de un anticuerpo siempre consiste en cadenas H y L idénticas. La molécula de anticuerpo más simple tiene la forma de una Y (figura 8-3), y consiste en cuatro cadenas polipeptídicas: dos cadenas H y dos L. Las cuatro cadenas están unidas de manera covalente por puentes disulfuro.

Si una molécula de anticuerpo se trata con una enzima proteolítica (como la papaina) se rompen los puentes peptídicos en la **región de bisagra**, esta rotura que produce dos fragmentos Fab idénticos, los cuales portan los sitios de unión con el antígeno y un fragmento Fc involucrado en la transferencia placentaria, fijación del complemento, adherencia a varias células y en otras actividades biológicas.

Las cadenas L y H están subdivididas en **regiones variables** y **regiones constantes**. Las regiones están compuestas de segmentos repetidos y plegados tridimensionalmente llamados dominios. La estructura de estos dominios se ha determinado con gran detalle mediante cristalografía de rayos X. Una cadena L consta de un dominio variable (V_L) y de un dominio constante (C_L). La mayor parte de las cadenas H constan de un dominio variable (V_H) y tres o más constantes (C_H). Cada dominio mide aproximadamente 110 aminoácidos de largo. Las regiones variables son responsables de la unión con el antígeno; las regiones constantes se encargan de las funciones biológicas descritas más adelante.

Dentro de las regiones variables, tanto de las cadenas L como de las H, existen tres subregiones consistentes en secuencias de aminoácidos extremadamente variables (**hipervariables**) que forman el sitio de unión con el antígeno. Las regiones hipervariables forman el área de la molécula de anticuerpo complementaria en estructura al determinante antigénico o epítipo y, por consiguiente, se conocen como regiones determinantes de la complementariedad (CDR, del inglés *complementarity determining regions*). Sólo 5 a 10 aminoácidos en cada región hipervariable constituyen el sitio de unión con el antígeno. La unión con éste es no covalente, e involucra puentes débiles, como los de van der Waals y los electrostáticos, así como puentes de hidrógeno y otros.

Las moléculas pequeñas, como los haptenos, se unen a los anticuerpos en una muesca formada por los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras. La interacción de

un anticuerpo con una gran proteína nativa (p. ej., una proteína viral) se presenta por el contrario, con un epítipo conformacional o discontinuo que representa una porción superficial de la proteína antigénica. La mayor parte o todas las CDR de la molécula del anticuerpo están involucradas en esta unión.

Clases de inmunoglobulinas

A. IgG

Cada molécula IgG consta de dos cadenas L y dos H unidas por puentes disulfuro (fórmula molecular H_2L_2). Se dice que es divalente porque tiene dos sitios idénticos de unión con el antígeno. Existen cuatro clases (de la IgG1 a la IgG4), basadas en diferencias antigénicas en las cadenas H y en el número y la localización de los puentes disulfuro. La IgG1 representa 65% de la IgG total. La IgG2 está dirigida contra antígenos polisacáridos y puede ser una defensa importante del huésped en contra de bacterias encapsuladas.

La IgG es el anticuerpo predominante en la respuesta secundaria y es una defensa importante contra bacterias y virus. Es el único anticuerpo que pasa a la placenta y es, por consiguiente, la inmunoglobulina más abundante en el recién nacido.

B. IgM

Esta es la principal inmunoglobulina producida al inicio de la respuesta inmunitaria **primaria**. La IgM está presente en la superficie de casi todas las células B no asignadas, y está compuesta de cinco unidades H_2L_2 (cada una similar a una unidad IgG) y una molécula de la cadena J (de unión) (figura 8-4). El pentámero (PM 900 000) tiene un total de 10 sitios idénticos de unión con el antígeno y, por tanto, su valencia es de 10. Es la inmunoglobulina más eficiente en la aglutinación, fijación del complemento y otras reacciones antígeno-anticuerpo; es importante también en la defensa contra bacterias y virus. Puede ser producida por un feto que sufra una infección. Como su interacción con el antígeno puede incluir a los 10 sitios de unión, tiene así la mayor avididad de todas las inmunoglobulinas.

C. IgA

La IgA es la principal inmunoglobulina en la leche, en la saliva, así como en las lágrimas y en las secreciones de los

Cuadro 8-1. Propiedades de las inmunoglobulinas humanas

	IgG	IgA	IgM	IgE	IgD
Símbolo de la cadena pesada	γ	α	μ	ϵ	δ
Peso molecular ($\times 1000$)	150	170 o 400*	900	190	150
Concentración sérica (mg/mL)	0.5 a 10	0.5 a 3	1.5	0.003	0.03
Vida media en suero (días)	23	6	5	1 a 5	2 a 8
Fijación del complemento	Sí	No	Sí	No	No
Porcentaje total de inmunoglobulinas en suero	80	13	6	< 1	< 1

* En secreciones, por ejemplo, saliva, leche y lágrimas, y en secreciones de las vías respiratoria, intestinal y genital.

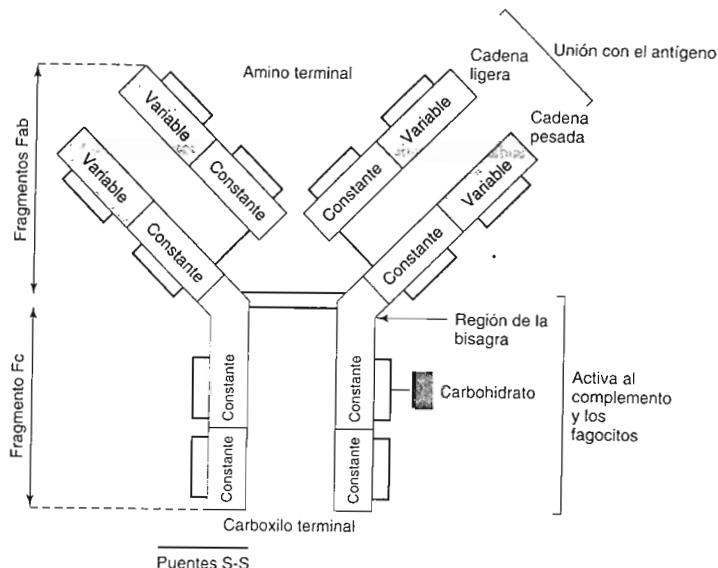


Figura 8-3. Representación esquemática de una molécula de IgG para indicar la ubicación de las regiones constante y variable en las cadenas ligera y pesada.

aparatos respiratorio, intestinal y genital. Protege a la mucosa del ataque por bacterias y virus.

Cada molécula de IgA secretoria (PM 400 000) consta de dos unidades H_2L_2 , una cadena J y un componente secretor. Este último es una proteína que deriva del corte del receptor poli-Ig, que une a los dímeros IgA y facilita su transporte a través de las células epiteliales de la mucosa. Algunas IgA se encuentran en el suero como un monómero H_2L_2 (PM 170 000). Existen por lo menos dos subclases, la IgA1 y la IgA2. Algunas bacterias (p. ej., *Neisserias*) pueden destruir a la IgA1 mediante la producción de una proteasa y vencer así a la resistencia mediada por anticuerpos en las superficies de las mucosas.

D. IgE

La región Fc de las IgE se une a un receptor en la superficie de las células cebadas y de los eosinófilos. Esta IgE enlazada actúa como un receptor para el antígeno que estimuló su producción y el complejo antígeno-anticuerpo resultante provoca la respuesta alérgica de tipo inmediato (anafiláctica) mediante la liberación de mediadores. En las personas con esta hipersensibilidad alérgica mediada por anticuerpos, la concentración de IgE es muy alta y puede aparecer en secreciones externas. Es común que la IgE sérica aumente en infecciones por helmintos.

E. IgD

Esta inmunoglobulina actúa como un receptor de antígenos cuando está en la superficie de ciertos linfocitos B. En el suero se presenta en cantidades insignificantes.

Genes de inmunoglobulinas y generación de la diversidad

Se han desarrollado mecanismos genéticos especiales para producir en el huésped la gran cantidad de moléculas de inmunoglobulinas (alrededor de 10^{11}) en respuesta a la estimulación antigénica, sin requerir un número excesivo de

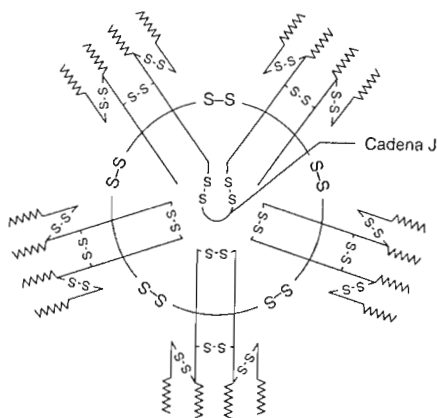


Figura 8-4. Esquema de la estructura pentamérica de la IgM humana.

genes. De esta manera, los genes de las inmunoglobulinas (y, como se verá posteriormente, los genes que codifican el receptor de células T) sufren una recombinación somática para producir la gran diversidad de especificidad de anticuerpos.

Cada cadena de inmunoglobulina consta de una región variable (V) y una constante (C). Para cada tipo de cadena de inmunoglobulina, es decir, para la cadena ligera kappa (κ), la cadena ligera lambda (λ) y las cinco cadenas pesadas (γ H, μ H, α H, ϵ H y δ H), existe un grupo separado de segmentos génicos localizados en diferentes cromosomas. Cada uno de tres *loci* de genes contiene un conjunto de diferentes segmentos del gen V, muy separados de los segmentos del gen C. Durante la diferenciación de las células B, el DNA se reacomoda para colocar a los segmentos de genes seleccionados uno junto al otro en el genoma. Una familia de enzimas conocidas como **recombinasas** son responsables de este proceso de reacomodo.

La región variable de cada cadena L está codificada por dos segmentos de genes: el V y el J. La región variable de cada cadena H está codificada por tres segmentos génicos: V, D y J. Estos segmentos están unidos en un gen funcional V-variable por redistribución del DNA. Cada gen V-variable ensamblado se transcribe junto con el apropiado gen C-constante para producir un RNA mensajero (mRNA) que codifica para la cadena peptídica completa. Las cadenas L y H se sintetizan por separado en los polisomas y finalmente se ensamblan en el citoplasma para formar unidades H_2L_2 por medio de puentes disulfuro. La mitad carbohidratada se agrega entonces durante su paso a través de los componentes de la membrana de la célula (p. ej., el aparato de Golgi) y la molécula de inmunoglobulina se libera de la célula.

Este mecanismo de reordenamiento del gen permite el acoplamiento de una gran variedad de moléculas de inmunoglobulina. La diversidad en los anticuerpos depende de: 1) múltiples segmentos de genes V, D y J; 2) vinculación combinatoria, es decir, la relación de cualquier segmento del gen V con cualquier segmento D o J; 3) combinación al azar de diferentes cadenas L y H; 4) mutaciones somáticas; 5) La diversidad de empalmes creada por la unión imprecisa durante el reordenamiento con la adición de nucleótidos por la enzima terminal desoxinucleotidil transferasa para formar una unión completa.

Cambio de clase de inmunoglobulinas

Al principio, todas las células B correspondientes a un antígeno portan IgM específica para ese antígeno y producen IgM en respuesta a la exposición a tal antígeno. Más tarde, el reordenamiento de genes permite la elaboración de anticuerpos de la misma especificidad antigénica pero de diferente clase de inmunoglobulina. En el **cambio de clase**, el mismo gen ensamblado V_H puede vincularse de manera secuencial con diferentes genes C_H , por lo que la inmunoglobulina producida posteriormente (IgG, IgA o IgE) tiene la misma especificidad de la IgM original, pero diferentes características biológicas. El cambio de clase depende de citoquinas liberadas de las células T y también sucede después de la estimulación antigénica.

RECEPTORES DE SUPERFICIE CELULAR PARA ANTÍGENOS

1. RECEPTORES DE CÉLULAS B PARA ANTÍGENOS

La célula B expresa una variante de IgM que se localiza en la superficie celular. La IgM de la superficie tiene la misma especificidad antigénica de la molécula del anticuerpo IgM secretado, esto se logra mediante un mecanismo de "splicing" diferencial del RNA. El RNA de la cadena μ puede incluir una secuencia que codifica para cerca de 25 aminoácidos hidrofóbicos, misma que le permite a la molécula de IgM localizarse en la membrana celular como un receptor transmembranal. Posteriormente, en el desarrollo de la célula B, la regulación del procesamiento del RNA permite la expresión de una variante de IgD unida a la membrana, nuevamente con la misma especificidad de unión con el antígeno. A lo largo de este proceso, el mismo segmento de la región V se expresa con diferentes segmentos de la región C.

Como receptores unidos a la membrana, la IgM o la IgD interactúan con otras moléculas de la superficie celular, conocidas como $I\alpha$ e $I\beta$, que pueden transducir señales después de la unión con el antígeno al interactuar con moléculas de tirosinasa y otros componentes de la maquinaria de transducción de la señal. Estas señales provocan eventos bioquímicos que involucran a fosfatasa intracelulares, cinasas, proteínas de fijación del GTP, mediadores lipídicos, iones de calcio y otros intermediarios que eventualmente conducen a la activación celular.

2. RECEPTOR DE CÉLULAS T PARA ANTÍGENO

El receptor de células T es una proteína heterodimérica transmembranal compuesta de dos cadenas enlazadas por disulfuros. Este receptor se parece a un fragmento Fab de inmunoglobulina unido a la membrana. Existen dos clases diferentes de receptores de células T. Las dos cadenas se conocen como α y β en una clase y como γ y δ en la otra. Las células T que expresan $\gamma\delta$ son relativamente poco comunes en los humanos y parecen estar dirigidas hacia el reconocimiento de antígenos bacterianos frecuentes (p. ej., las proteínas de choque por calor de ciertas micobacterias). Las células T $\alpha\beta$ representan el fenotipo predominante de células T y están subdivididas en clases funcionales de colaboradoras y citotóxicas por la expresión de otros marcadores en su superficie celular, las proteínas conocidas como CD4 y CD8 respectivamente.

Las proteínas receptoras de las células T tienen regiones variables y constantes similares a los anticuerpos. Las regiones variables se localizan en los grupos amino terminales de la cadena polipeptídica, los más alejados de la membrana celular. Ambas cadenas contribuyen al dominio variable que se ha demostrado interactúa con los antígenos presentados por las proteínas propias codificadas por el complejo principal de histocompatibilidad (MHC).

Los genes para los receptores de las células T se parecen mucho a los genes de las inmunoglobulinas, y la generación de la diversidad en los receptores de células T se logra de una

manera
noglobu
nes vari
especifi
se pued
anticuer
cadenas
antes po
de muta
posibili
ngénica
mucho
pos. Ex
tores de
En esen
células
linas. Po
de los re
bles de
tienen s
asemeja
que son

En
antígen
cionan
peptídica
constitu
las resp
señal re
mento
plejo C
interact
membr
químico
enpción
activada

La
clases fu
molecul
ranie el
CDs int
y con la
molecul
culas de
las célula

3. COMPLEJO

El comp
cubrió p
las moie
posible
tre indiv
las moie
los prese
de traspl
tígene po
tor de cé
anticuer

manera muy semejante a la descrita al principio para las inmunoglobulinas. Por tanto, existen múltiples segmentos de regiones variables, que contribuyen con un repertorio de diferentes especificidades antigénicas; múltiples segmentos V, D, y J que se pueden combinar de maneras distintas justo como en los anticuerpos y la combinación al azar de un número grande de cadenas α y β . Existen dos diferencias con la situación descrita antes para los anticuerpos: 1) no se han encontrado evidencias de mutación somática en receptores de las células T; y 2) la posibilidad de incrementar el repertorio de especificidades antigénicas potenciales mediante la diversidad en la unión es mucho mayor para receptores de células T que para anticuerpos. Existen más segmentos J y D para los genes de los receptores de las células T que para los genes de las inmunoglobulinas. En esencia, sin embargo, la codificación de receptores de las células T se parece mucho a la descrita para las inmunoglobulinas. Por ejemplo, las regiones variables de las cadenas α y γ de los receptores de las células T son como las regiones variables de las cadenas ligeras de inmunoglobulinas en cuanto que tienen segmentos V y J, mientras que las cadenas β y δ y se asemejan a las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas por que son codificadas por los segmentos V, D y J.

En todas las células T funcionales específicas para el antígeno, las dos cadenas del receptor de células T se relacionan de manera no covalente con otras seis cadenas polipeptídicas compuestas de cinco diferentes proteínas que constituyen el complejo CD3. Las proteínas invariables son las responsables de transducir hacia el interior de la célula la señal recibida por el receptor de la célula T en el reconocimiento del antígeno. Las cinco proteínas diferentes del complejo CD3 son proteínas transmembranales que pueden interactuar con tirosinas cinasas citosólicas en el interior de la membrana. Es esta interacción la que inicia los eventos bioquímicos de la señal de transducción que conducen a la transcripción del gen, a la activación celular y al inicio de las actividades funcionales de las células T.

Las moléculas CD4 y CD8 que diferencian a las dos clases funcionales principales de células T funcionan como moléculas coreceptoras en la superficie de células T. Durante el reconocimiento del antígeno, las moléculas CD4 y CD8 interactúan con el complejo del receptor de la célula T y con las moléculas del MHC. El CD4 interactúa con las moléculas del MHC clase II y el CD8 lo hace con las moléculas del MHC clase I. Esto incrementa la sensibilidad de las células T para reconocer al antígeno.

3. COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD

El complejo principal de histocompatibilidad (MHC) se descubrió primero como el *locus* genético que codificaba para las moléculas de glucoproteínas (antígenos de trasplante) responsables del rechazo rápido de los tejidos trasplantados entre individuos genéticamente diferentes. Ahora se sabe que las moléculas del MHC se unen a los antígenos peptídicos y los presentan a las células T. De esta manera, estos antígenos de trasplante son los responsables del reconocimiento del antígeno por el receptor de la célula T. A este respecto, el receptor de células T es diferente del anticuerpo. Las moléculas de anticuerpo interactúan de modo directo con el antígeno; el

receptor de la célula T sólo reconoce los antígenos presentados por las moléculas del MHC en otra célula, la célula presentadora del antígeno. El receptor de la célula T es específico para el antígeno, pero el antígeno debe ser presentado por una molécula del MHC propia. El receptor de la célula T también es específico para la molécula del MHC. Si el antígeno se presenta *in vitro* por otra variante alélica de la molécula MHC (normalmente sólo en una situación experimental), no se da el reconocimiento por el receptor de la célula T. Este fenómeno se conoce como restricción por el MHC.

En los humanos, el MHC es un grupo de genes muy estudiados localizados en el cromosoma 6. Mucho es lo que se sabe acerca de este *locus* importante y se remite al lector a textos de inmunología para información adicional. Entre el gran número de genes importantes en el MHC humano, también conocido como HLA (antígeno leucocitario humano, del inglés *human leukocyte antigens*), están los que codifican a las proteínas del MHC clases I, II y III. Como se muestra en el cuadro 8-2, las proteínas de clase I están codificadas por los genes HLA-A, -B y -C. Estas proteínas están constituidas por dos cadenas: 1) una glucoproteína transmembranal de PM 45 000 unida de manera no covalente a 2) un polipéptido no codificado por el MHC de PM 12 000 conocido como β_2 -microglobulina. Las moléculas de la clase I se encuentran prácticamente en todas las células nucleadas del cuerpo.

Las proteínas de la clase II están codificadas por la región HLA-D. Como se muestra en el cuadro 8-2, existen tres grupos principales: las moléculas codificadas por -DP, -DQ y -DR. Este *locus* retiene el control de la respuesta inmunitaria y las diferentes variantes alélicas de estos genes le confieren importantes diferencias en la capacidad para lograr una respuesta inmunitaria contra un antígeno determinado.

Las proteínas codificadas por el *locus* HLA-D están constituidas por dos glucoproteínas de transmembrana unidas de manera no covalente y en PM son de 33 000 y 29 000. A diferencia de las proteínas de clase I, éstas muestran una distribución tisular restringida y se localizan principalmente en macrófagos, células B y otras células presentadoras de antígenos. Su expresión en otras células (p. ej., células endoteliales) se puede inducir a través del interferón γ .

El *locus* de la clase II del MHC también incluye genes codificadores de proteínas que participan en el procesamiento de antígenos (p. ej., TAP; figura 8-7). El *locus* de clase III del MHC codifica proteínas del complemento y varias citocinas.

Los genes del MHC muestran variabilidad genética notable. El MHC es *poligénico* porque existen varios genes para cada clase de molécula; también es *polimórfico*. Por tanto, existe una gran cantidad de alelos en la población para cada uno de los genes. Cada individuo hereda un grupo restringido de alelos de sus padres. Los grupos de genes del MHC tienden a heredarse como un bloque o *haplotipo*, ya que existen relativamente pocos eventos de entrecruzamiento en este *locus*.

Mucho es lo que se sabe acerca de la organización estructural y la secuencia de los genes del MHC y sus proteínas. Quizá la información más importante, sin embargo, provenga de los análisis cristalográficos por rayos X de proteínas, lo que ayudó a explicar con claridad la función de éstas. El análisis con rayos X (figura 8-5) muestra que los dominios de la molécula del MHC clase I que están más apartados de la membrana, están compuestos de dos hélices α paralelas por enci-

Cuadro 8-2. Características importantes de algunos productos de gen del MHC humano

	Clase I	Clase II
Loci genéticos (lista parcial)	HLA-A, -B y -C	HLA-DP, -DQ y -DR
Composición de polipéptidos	PM 45 000 + β_2 M (PM 12 000)	Cadena α (PM 33 000) Cadena β (PM 29 000) Cadena Ii (PM 30 000)
Distribución celular	Todas las células somáticas nucleadas	Células presentadoras de antígeno (macrófagos, células B, etc.), células T humanas activadas
Presentan antígenos peptídicos a	Células T CD8.	Células T CD4
Tamaño del área de unión a péptidos	8 a 11 residuos	10 a 30 o más residuos

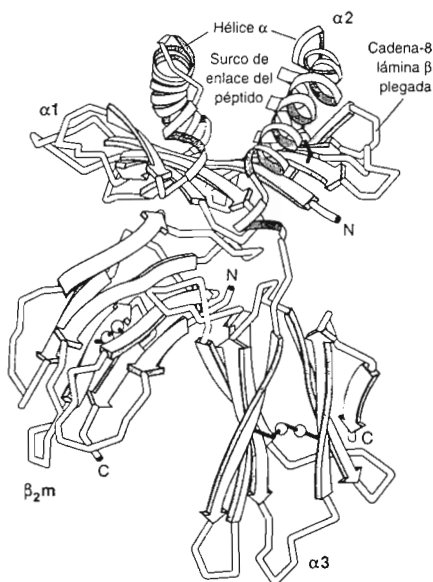


Figura 8-5. Diagrama de la estructura de una molécula HLA de la clase I. (Reproducida con autorización de Bjorkman PJ et al.: Structure of the human class I histocompatibility antigen HLA-A2. Nature 1987;329:506.)

ma de una plataforma creada por un plegamiento β . La estructura completa sin duda se parece a una hendidura cuyos lados están formados por las hélices α , y el piso por las hojas β . El análisis con rayos X también mostró que la hendidura estaba ocupada por un péptido. En esencia, entonces, la célula T percibe al antígeno peptídico alojado en una hendidura proporcionada por la proteína del MHC. La figura 8-6A muestra un diagrama simplificado de esta interacción.

Las proteínas del MHC muestran una amplia especificidad para los antígenos peptídicos, y muchos péptidos distintos pueden ser presentados por cualquier alelo del MHC (se enlaza un péptido en cada ocasión). Las hélices α que forman la hendidura de unión son los sitios de los residuos de aminoácidos que son polimórficos en las proteínas del MHC (es decir, las que varían entre los alelos). Esto significa que diferentes alelos se pueden unir y presentar diferentes antígenos peptídicos. Por todas estas razones, el polimorfismo del MHC tiene un efecto importante en el reconocimiento del antígeno.

El análisis de la función de las células T respecto de su interacción con las moléculas del MHC revela que los antígenos peptídicos relacionados con las moléculas del MHC clase I son reconocidos por los linfocitos T CD8 citotóxicos, mientras los antígenos peptídicos relacionados con las de clase II son reconocidos por las células T CD4 colaboradoras.

4. LA FAMILIA DE SUPERGENES DE INMUNOGLOBULINA

Las moléculas comentadas: anticuerpos, receptor de células T y proteínas del MHC) tienen características estructurales en común. Todas (y una larga lista de otras moléculas inmunitariamente relevantes, incluso la subpoblación de células T con marcadores CD4 y CD8) tienen una estructura del dominio construida sobre la característica tridimensional conocida como **pliegue de inmunoglobulina**. Sin duda, los miembros de esta familia evolucionaron de tal manera que aportan una función común al organismo. Una parte de esta función es actuar como unidad de reconocimiento o receptora en la superficie celular.

5. PROCESAMIENTO Y PRESENTACIÓN DEL ANTÍGENO

El procesamiento y la presentación de antígenos constituyen el medio por el cual los antígenos se asocian con moléculas MHC propias para presentar a las células T con los receptores apropiados. Las proteínas de antígenos exógenos (como las bacterias) son internalizadas a través de las vesículas endocíticas en las células presentadoras de antígenos (como los macrófagos); después, como se ilustra en la figura 8-7, son expuestas a las proteasas celulares en las vesículas intracelulares. Péptidos de alrededor de 10 a 30 residuos de aminoácidos de longitud se generan en las vesículas endosómicas, las cuales pueden entonces fusionarse con vesículas exocíticas que contienen moléculas del MHC clase II.

Estas moléculas se sintetizan, al igual que otras glicoproteínas de la membrana, en el retículo endoplásmico rugoso y luego se exteriorizan a través del aparato de Golgi. Un tercer polipéptido, la **cadena invariable** (Ii) protege al sitio

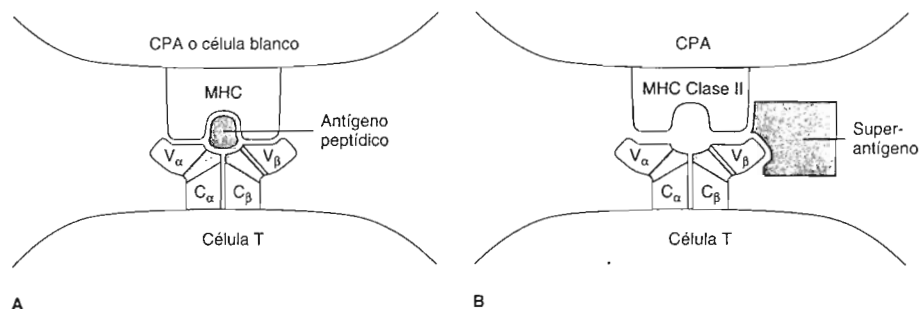


Figura 8-6. Unión del antígeno mediante MHC y el receptor de la célula T. En la **parte A**, se muestra un modelo de la interacción entre el antígeno peptídico, MHC, y el receptor de la célula T. Las regiones V_α y V_β del RCT se muestran en interacción con las hélices α del MHC, que forman el surco de unión con el antígeno peptídico. En la **parte B**, se muestra un modelo de la interacción entre un superantígeno, el MHC y el receptor de la célula T. El superantígeno interactúa con la región V_β del RCT y con MHC de la clase II fuera del surco de unión del péptido. (Modificada y reproducida con autorización de Parslow TG *et al.* [editores]: *Medical Immunology*, 10th ed. McGraw-Hill, 2001. Obra publicada en español por Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.)

de unión del dímero $\alpha\beta$ de la clase II hasta que la reducción en el pH del compartimento creado después de la fusión con una vesícula endosómica produzca una disociación de la cadena I . El complejo MHC clase II-antígeno peptídico se transporta luego a la superficie celular para que se exhiba y lo reconozca un receptor de células T de una célula CD4.

Los antígenos endógenos (p. ej., proteínas virales citosólicas sintetizadas en una célula infectada) se procesan para su presentación por las moléculas del MHC clase I. Algunas de las etapas involucradas se muestran en la figura 8-7. En resumen, las proteínas citosólicas se degradan por un complejo peptidasa conocido como **proteosoma**. El péptido citosólico logra su acceso a la nascente molécula del MHC clase I en el retículo endoplásmico rugoso a través de los sistemas transportadores de péptidos (transportadores relacionados con el procesamiento de antígenos; TAP, del inglés *transporters associated with antigen processing*). Los genes TAP también se codifican en el MHC. Dentro de la luz del retículo endoplásmico, los antígenos peptídicos de aproximadamente 8 a 11 residuos de longitud forman complejos con las nascentes proteínas del MHC clase I y colaboran con la β_2 -microglobulina para crear un complejo MHC clase I-antígeno peptídico, estable y completamente plegado, el cual se transporta luego a la superficie celular para su exhibición y reconocimiento por las células T citotóxicas con marcador CD8.

El surco de unión de las de la clase I es más limitado que el de las moléculas de la clase II, y por esta razón se encuentran péptidos más cortos en las moléculas MHC clase I que en las de clase II.

El conocimiento de los detalles del procesamiento del antígeno ha esclarecido la función de las células T; por tanto, ahora se entiende por qué estas células no responden a antígenos de carbohidratos (no se ajustan en el surco) y por qué reconocen sólo determinantes antigénicos lineales (responden sólo a antígenos procesados proteolíticamente). El que un antígeno esté destinado a su presentación por la clase I o II depende sólo de los compartimientos intracelulares que atraviesa.

Diversos virus intentan nulificar la respuesta inmunitaria interfiriendo con las vías de procesamiento del antígeno.

Por ejemplo, la proteína Tat VIH puede inhibir la expresión de las moléculas del MHC clase I. Una proteína de herpesvirus se une a las proteínas transportadoras (TAP) para evitar el transporte de los péptidos virales hacia el retículo endoplásmico, donde se sintetizan las moléculas de la clase I. Una consecuencia de estos mecanismos inhibitorios es que estos virus pueden evadir a la respuesta inmunitaria porque las células que infectan no son reconocidas por los linfocitos efectores.

Algunos **superantígenos** pueden unirse a las moléculas del MHC fuera de la hendidura de unión de péptidos. Una consecuencia es que mientras un péptido individual que forma complejos con una molécula del MHC estimula normalmente a sólo un pequeño porcentaje de las células T en un individuo, los superantígenos hacen que hasta 10% de las células T se activen inespecíficamente. Ejemplos de superantígenos son algunas toxinas bacterianas, que incluyen enterotoxinas estafilocócicas, toxina del síndrome de choque tóxico y la exotoxina A pirógena del estreptococo del grupo A. Estos antígenos se unen "por fuera" de la proteína del MHC y del receptor de la célula T (figura 8-6B). Son activos a muy bajas concentraciones (10^{-9} mol/L) y provocan la estimulación de las células T que expresan secuencias particulares $V\beta$ y la liberación de grandes cantidades de citocinas, incluso IL-1 y factor de necrosis tumoral (TNF, del inglés *tumor necrosis factor*). Es esta liberación de grandes cantidades de citocinas por la estimulación de un gran porcentaje de las reservas de linfocitos T la que explica, en gran parte, la patogenia de las enfermedades causadas por microorganismos con superantígenos.

INMUNIDAD MEDIADA POR ANTICUERPOS (HUMORAL)

Respuesta primaria

Cuando una persona encuentra un antígeno por primera vez, se detectan en el suero anticuerpos contra ese antígeno en los primeros días o semanas, según la naturaleza y la dosis

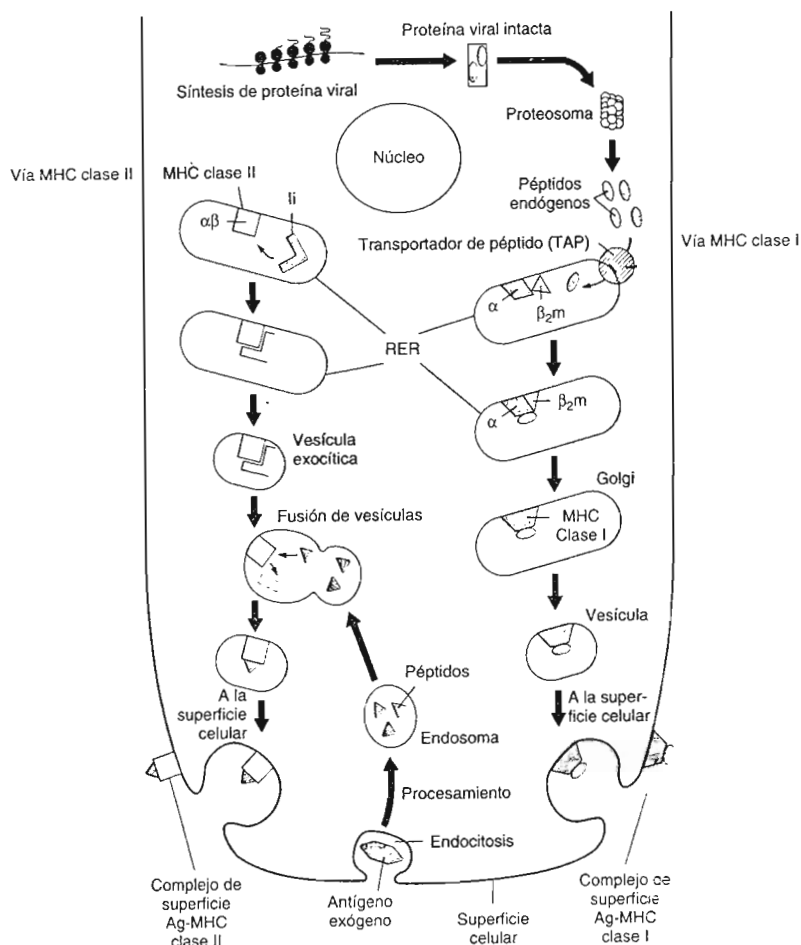


Figura 8-7. Vías de procesamiento del antígeno. (Modificada y reproducida con autorización de Parslow TG *et al.* [editors]: *Medical Immunology*, 10th ed. McGraw-Hill, 2001. Obra publicada en español por Editorial El Manual Moderno, S.A. de C.V.)

del antígeno y la vía de administración (p. ej., oral, parenteral). La concentración de anticuerpos séricos continúa en aumento durante varias semanas y luego declina: puede caer a concentraciones muy bajas (figura 8-8). Los primeros anticuerpos que se forman son los IgM, seguidos por IgG, IgA o ambos. Las concentraciones de IgM tienden a declinar más rápido que las de IgG.

Respuesta secundaria

En caso de un segundo encuentro con el mismo antígeno (o uno con el que tenga "reacción cruzada") meses o años des-

pués de la respuesta primaria, la respuesta de los anticuerpos es más rápida y se llega a concentraciones mayores que durante la respuesta primaria. Este cambio en la respuesta se atribuye a la persistencia de "células de memoria" sensibles al antígeno después de la primera respuesta inmunitaria. En la respuesta secundaria, la cantidad de IgM producida es cualitativamente similar a la que se produjo después del primer contacto con el antígeno; sin embargo, se produce mucho más IgG y la concentración de ésta tiende a persistir mucho más tiempo que en la respuesta primaria. Además, estos anticuerpos tienden a unirse con el antígeno de manera más firme (es decir, tienen mayor afinidad) y por tanto se separan con más dificultad.

Función

Debido a la alta especificidad de los anticuerpos, los tipos de anticuerpos que se producen en una respuesta inmunitaria dependen de la naturaleza del antígeno (p. ej., si es un péptido, un polisacárido, un virus, etc.). Los anticuerpos pueden actuar de varias maneras: neutralizando los patógenos, opsonizando a los microbios para su destrucción por células fagocíticas, formando complejos inmunes que se eliminan por el sistema reticuloendotelial, o actuando como agentes citotóxicos.

© Editorial El Manual Moderno. Todos los derechos reservados. No se permite la explotación económica ni la transformación de esta obra. Queda permitida la impresión en su totalidad.

Concentración de anticuerpo en el suero

tiempo

meses

de

Figura

va admini

fuente

Funciones protectoras de los anticuerpos

Debido a la cercana complementariedad estructural entre los anticuerpos y los antígenos que inducen su formación, los dos tienden a unirse entre sí siempre que se encuentran, *in vivo* o *in vitro*. Esta unión es no covalente e involucra fuerzas de van der Waals, electrostáticas y otras uniones débiles, así como puentes de hidrógeno y otros. Los anticuerpos pueden producir resistencia a la infección mediante opsonización (envoltura) de los microorganismos, que los hace más fácilmente ingeribles por los fagocitos; los anticuerpos se pueden unir a los virus y reducir su capacidad para unirse a receptores celulares y moleculares e invadir a las células del huésped; más importante todavía, los anticuerpos pueden neutralizar las toxinas de los microorganismos (p. ej., difteria, tétanos y botulismo) e inactivar sus efectos nocivos.

Los anticuerpos se pueden inducir activamente en el huésped mediante la administración de antígenos apropiados o preparaciones que los contengan (toxoides de difteria, tétanos), pero sus efectos se retardan hasta que los anticuerpos alcanzan concentraciones útiles. Por el contrario, los anticuerpos pueden administrarse pasivamente (es decir, preformados en otro huésped) y estar inmediatamente disponibles para propósitos preventivos o terapéuticos. El último enfoque (inmunización pasiva) ha sido utilizado en el tratamiento de lesiones producidas con agujas en sujetos que no han sido vacunados contra la hepatitis B.

La inmunidad mediada por anticuerpos contra bacterias es más efectiva cuando se dirige contra infecciones microbianas en las cuales la virulencia se relaciona con las cápsulas de polisacáridos (p. ej., neumococo, *Haemophilus*, *Neisseria*). En tales infecciones, los anticuerpos forman complejos con los antígenos capsulares y convierten al microorganismo susceptible a la ingestión por células fagocíticas y a su destrucción dentro de éstas.

Muchas respuestas inmunitarias mediadas por células también requieren la cooperación de anticuerpos dirigidos contra antígenos nocivos antes de que éstos puedan ser inactivados o eliminados (véase después). Por otra parte, la unión

de los anticuerpos con los antígenos produce la formación de complejos inmunitarios, y el depósito de estos complejos puede ser un hecho importante en el desarrollo de la disfunción de órganos, por ejemplo, glomerulonefritis posestreptocócica.

SISTEMA DEL COMPLEMENTO

El sistema del complemento está constituido por proteínas séricas y unidas a membrana que actúan en ambos sistemas de defensa del huésped, el adquirido y el innato. Estas proteínas están muy controladas e interactúan a través de una serie de cascadas proteolíticas. El término "complemento" se refiere a la capacidad de estas proteínas de complementar (aumentar) los efectos de otros componentes del sistema inmunitario (p. ej., anticuerpos). El complemento tiene varios efectos importantes: 1) lisis de la célula (p. ej., células bacterianas y tumorales); 2) producción de mediadores que participan en la inflamación y atracción de fagocitos; 3) opsonización de microorganismos y de complejos inmunitarios para su eliminación mediante fagocitosis y 4) intensificar la respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos. Las proteínas del complemento se sintetizan principalmente en el hígado y células fagocíticas.

Activación del complemento

Varios componentes del complemento son proenzimas, que deben cortarse para formar enzimas activas. Los componentes de la vía clásica se numeran desde C1 hasta C9, y la secuencia de la reacción es C1-C4-C2-C3-C5-C6-C7-C8-C9. Hasta C5, la activación implica corte proteolítico, liberando fragmentos más pequeños derivados de C2 hasta C5. Los fragmentos más pequeños por conveniencia se indican con una letra *a* (p. ej., C4a), y los fragmentos más grandes con *b* (p. ej., C5b). La activación del sistema del complemento puede iniciarse ya sea mediante complejos antígeno-anticuerpos o por diversas moléculas no inmunitarias.

La activación secuencial de los componentes del complemento (figura 8-9) ocurre a través de dos vías.

A. Vía clásica

Sólo la IgM y la IgG activan o fijan al complemento a través de esta vía. De las IgG, sólo las subclases 1, 2 y 3 fijan complemento; la IgG4 no lo hace. El C1, fijo a un sitio en la región Fc, está compuesto de tres proteínas: C1q, C1r y C1s. La C1q es un agregado de polipéptidos unidos a las porciones Fc de la IgG y de la IgM. El complejo formado por antígeno-anticuerpo unido a C1 activa a la C1s, que escinde a C4 y C2 para formar C4b2a. Este último es una C3 convertasa activa que escinde a las moléculas C3 en dos fragmentos: C3a y C3b. La C3a es una anafilatoxina y se comenta posteriormente. La C3b forma un complejo con C4b2a para producir una nueva enzima, la C5 convertasa, que desdobra C5 para formar C5a y C5b. La C5a es una anafilatoxina y un factor quimiotáctico (véase después). La C5b se une a C6 y C7 para formar un complejo que se inserta en la bicapa membranal. C8 se une entonces al complejo C5b/C6/C7, seguido

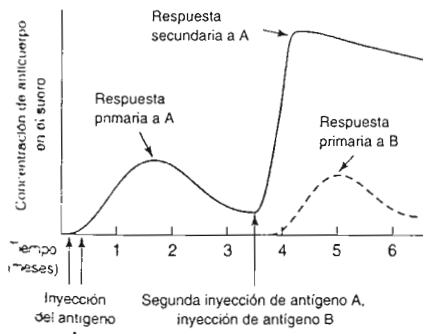


Figura 8-8. Tasa de producción de anticuerpos después de la administración inicial del antígeno y una inyección de "refuerzo".

por la polimerización de hasta 16 moléculas C9 para producir el complejo de ataque de la membrana que genera un canal o poro en la membrana y causa histólisis al permitir el libre paso de agua a través de la membrana celular.

B. Vía alterna

Muchas sustancias sin relación alguna, desde complejos químicos (p. ej., endotoxinas) hasta agentes infecciosos (p. ej., parásitos) activan una vía diferente. El C3 se escinde y se produce una C3 convertasa mediante la acción de los factores B, D y properidina. La C3 convertasa alterna (C3bBb) genera más C3b. La C3b adicional se enlaza a la C3 convertasa para formar C3bBbC3b; éste es la vía alterna de la C5 convertasa que genera C5b y produce el complejo de ataque a la membrana descrito antes.

En los últimos años surgió el concepto de una vía adicional de activación del complemento, la vía MB lectina. Su constituyente principal es una proteína plasmática llamada

MBL, que es corta y sirve para la unión lectina-manosa. La MBL se une a residuos de azúcar como la manosa encontrada en los polisacáridos de superficie microbiana como los LPS. Además de activarse sin anticuerpos, el resto de la vía es igual a la vía típica de la activación del complemento.

Regulación del sistema del complemento

Varias proteínas séricas regulan al sistema del complemento en diferentes etapas: 1) el inhibidor C1 se une e inactiva a la serina proteasa de C1r y C1s; 2) el factor I escinde C3b y C4b, y por consiguiente reduce la cantidad disponible de la C5 convertasa; 3) el factor H intensifica el efecto del factor I sobre la C3b, y 4) el factor P (properidina) protege a la C3b y estabiliza la C3 convertasa de la vía alterna. También se da la regulación por factores que pueden acelerar la degradación de las proteínas del complemento (p. ej., el factor acelerante de la degradación, una proteína de membrana presente en la superficie de la mayor parte de las células sanguíneas y que puede actuar para acelerar la disociación de la C3 convertasa de ambas vías.

Principales efectos biológicos del complemento

A. Oponización

Células, complejos antígenos-anticuerpo y otras partículas se fagocitan mejor con la C3b debido a la presencia de los receptores C3b en la superficie de muchos fagocitos.

B. Quimiotaxis

C5a estimula el movimiento de neutrófilos y monocitos hacia los sitios donde se deposita el antígeno.

C. Anafilatoxinas

C3a, C4a y C5a pueden producir un incremento de la permeabilidad vascular y contracción del músculo liso. C3a y C5a también estimulan la liberación de histamina por las células cebadas.

D. Citólisis

La inserción del complejo C5b6789 en la superficie celular produce la muerte o lisis de células, incluso de eritrocitos, bacterias y células tumorales.

Consecuencias clínicas de las deficiencias del complemento

Se han descrito muchas deficiencias genéticas de las proteínas del complemento que suelen incrementar la susceptibilidad a las enfermedades infecciosas; por ejemplo, la deficiencia de C2 frecuentemente produce infecciones bacterianas piógenas graves. La deficiencia en componentes del complejo de ataque a la membrana incrementa mucho la susceptibilidad a infecciones por *Neisseria*. También se conocen deficiencias en los componentes de la vía alterna; por ejemplo, la deficiencia de la properidina se relaciona con mayor susceptibilidad a la infección por meningococo.

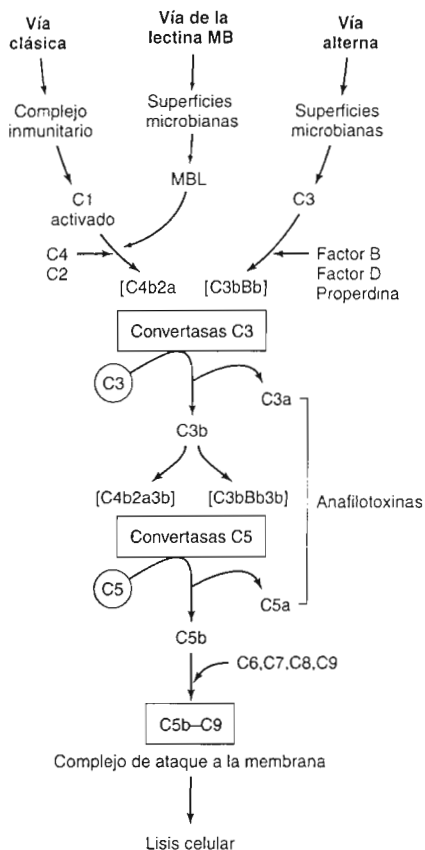


Figura 8-10. Secuencia de las reacciones del complemento.

INMUNIDAD MEDIADA POR CÉLULAS

La inmunidad mediada por anticuerpos es más importante en enfermedades inducidas por toxinas, en infecciones microbianas en las que la cápsula de polisacáridos determina la virulencia, y como parte de la respuesta del huésped ante algunas infecciones virales. Sin embargo, en la mayor parte de las infecciones microbianas es la inmunidad mediada por células la que confiere resistencia y ayuda en la recuperación, aunque se requiera la cooperación de los anticuerpos. Además, la inmunidad mediada por células es vital en la defensa del huésped contra patógenos intracelulares, como virus, y en la batalla contra células tumorales. La función importante de la inmunidad mediada por células se subraya en situaciones clínicas en las cuales su supresión (p. ej., SIDA) causa infecciones graves o tumores.

El sistema inmunitario celular está compuesto por varios tipos de células y sus productos. Los macrófagos presentan el antígeno a los linfocitos T a través de sus proteínas MHC situadas en la superficie. Los receptores de la célula T reconocen al antígeno y se activa una clona específica de la célula T que comienza a proliferar. Debido al gran número de las subpoblaciones de células T y a que sus interacciones (ya sea directamente o a través de la producción de citocinas solubles) originan un sistema de respuesta muy complejo, se comentan por separado ciertos aspectos del sistema.

Desarrollo de las células T

Dentro del timo, las células T progenitoras se diferencian (bajo la influencia de hormonas (tímicas) en subpoblaciones de células T. En años recientes se ha aprendido mucho de este proceso y se remite al lector a textos especializados para los detalles. Las células T se diferencian en el timo en células asignadas, las cuales expresan un receptor específico de la célula T y se hacen positivas para la expresión de moléculas correceptoras CD4 o CD8. Después de la diferenciación en el timo, las células T sufren procesos de selección positivos y negativos que culminan en la retención de sólo aquellas células que tienen los receptores más útiles, es decir, las específicas a los antígenos extraños y restringidas al propio MHC. Las clonas que podrían actuar contra lo propio se eliminan o inactivan funcionalmente (se hacen anérgicas). Como consecuencia del proceso de selección, alrededor de 95% de los timocitos muere en el timo. Sólo una minoría de las células T en desarrollo expresan los receptores apropiados para ser conservados y expulsados a la periferia cuando se convierten en células T efectivas.

Proliferación y diferenciación de las células T

La proliferación de las células T depende de diversos eventos. Las células T que nunca habían sido estimuladas se activan cuando encuentran un antígeno en las CPA. Sin embargo, el antígeno solo es insuficiente. Las células T en reposo deben recibir dos señales para que ocurra la activación. Una señal proviene del receptor de la célula T que interactúa con un complejo MHC-antígeno, el cual se ha presentado en otra

célula. Las moléculas de adhesión celular son importantes en la interacción entre ambos tipos celulares. El reconocimiento del antígeno activa varias vías bioquímicas en la célula, lo que finalmente causa la síntesis de DNA y mitosis. Como se describió antes, las proteínas del complejo CD3 relacionado con las cadenas del receptor de la célula T son importantes para la estimulación. El CD3 transduce la señal al citoplasma y finalmente origina la transcripción de, por ejemplo, los genes de IL-2 y del receptor de IL-2. La liberación de la IL-2 da lugar a la activación de otras células T que tienen receptores IL-2. Otra señal coestimulante requerida para la activación de la célula T viene de la interacción entre una molécula conocida como CD80 (B7), presente en las células presentadoras de antígenos profesionales, como las células B y los macrófagos, y su receptor contraparte, el CD28, en la célula T. Sin esta segunda señal la exposición de las células T al antígeno puede conducir a su inactivación funcional (anergia) o muerte. Una vez que las células T nativas se activan por complejos antígeno-MHC más una señal coestimulante, secretan la citocina IL-2 y expresan receptores IL-2. La proliferación de la célula T puede ahora inducirse de manera autocrina. Las células T en proliferación se diferencian luego en células efectoras armadas.

Las células T tienen dos grandes categorías: células que expresan CD4 y las que expresan CD8.

Las células T CD4, al proliferar se convierten hacia una de las dos principales categorías de células T efectoras: células inflamatorias TH1 o células colaboradoras TH2. El control de esta diferenciación radica principalmente en las citocinas producidas por la interacción del patógeno con el sistema inmunitario no adaptativo. Las células T inflamatorias activan macrófagos y originan la inmunidad mediada por células. Las células colaboradoras (TH2) activan a las células B para producir anticuerpos y, por consiguiente, estimulan la inmunidad humoral. El primer encuentro entre el patógeno y los mecanismos naturales de defensa del huésped pueden ser críticos para éste en la determinación de una infección.

Las células T CD8 pueden llegar a ser células efectoras totalmente activadas, ya sea al interactuar con complejos MHC-antígeno sobre células profesionales presentadoras de antígenos, que expresen grandes cantidades de moléculas coestimulantes (CD80: B7), o a través de la colaboración de células T CD4, las cuales interactúan con el mismo antígeno en una célula que expresa sólo bajas concentraciones de moléculas coestimulantes. En este último caso, la citocina liberada de las células T colaboradoras puede ayudar a dirigir las etapas finales de la activación de las células T CD8: 1) las células T citotóxicas (asesinas) expresan CD8 y reconocen los péptidos extraños generados por patógenos citotóxicos como virus, relacionados con moléculas del MHC clase I; 2) las células T inflamatorias (TH1) expresan CD4 y reconocen los péptidos extraños generados en la vía endocítica relacionada con las moléculas del MHC clase II. Estas células activan a los macrófagos para permitirles destruir a las bacterias intracelulares de manera más eficiente; 3) las células T colaboradoras (TH2) expresan CD4 y reconocen péptidos extraños generados, como ya se explicó, junto con las moléculas del MHC clase II. Estas células activan a las células B para que secreten inmunoglobulinas e inicien una respuesta inmunitaria humoral, que tiene como blancos a patógenos extracelulares y a toxinas.

Funciones de la célula T

Las células T tienen funciones efectoras y reguladoras.

A. Funciones efectoras

La inmunidad mediada por células y las reacciones de hipersensibilidad tardía son producidas principalmente contra antígenos de parásitos intracelulares, incluso virus, hongos, algunos protozoarios y bacterias (p. ej., micobacterias). Una deficiencia en la inmunidad mediada por células se manifiesta principalmente como una marcada susceptibilidad a la infección por estos microorganismos y a ciertos tumores.

En respuesta a injertos alógrafos o tumores, las células CD4 reconocen a las moléculas extrañas del MHC clase II además de los antígenos específicos, y son así activadas. Las células T citotóxicas positivas a CD8 responden entonces a la producción de citocinas (y otros factores solubles) por las células CD4, reconocen a las moléculas del MHC clase I sobre células "extrañas" y proceden a destruirlas. En el caso de células infectadas por virus, los linfocitos CD8 deben reconocer a los antígenos determinados por los virus y a las moléculas del MHC clase I en las células infectadas.

B. Funciones reguladoras

Las células T desempeñan una función central en la regulación de la inmunidad humoral (mediada por anticuerpos) y en la celular (mediada por células). La producción de anticuerpos por células B habitualmente requiere la participación de las células T colaboradoras (respuesta dependiente de célula T), pero los anticuerpos contra algunos antígenos (macromoléculas polimerizadas como los polisacáridos capsulares bacterianos) son el resultado de una respuesta independiente de la célula T.

En la respuesta de la célula B a los antígenos, dependiente de la célula T, tanto las células B como las T deben tener la misma especificidad para el MHC clase II. En estas respuestas dependientes de la célula T, el antígeno interactúa con la IgM en la superficie de la célula B. Inmediatamente se interioriza y procesa. Los fragmentos del antígeno se regresan a la superficie de la célula B acoplados con moléculas del MHC clase II. Estas interactúan con el receptor de la célula T sobre la célula T cooperadora, lo cual produce citocinas que mejoran la división de las células B y también contribuyen a su diferenciación en células plasmáticas productoras de anticuerpos, que expresan inmunoglobulinas de otras clases (p. ej. IgG, IgA). Al igual que las células T, las células B requieren dos señales para su activación. Una señal proviene del receptor de la célula B para el antígeno, y la otra señal, de estimulación simultánea, resulta de la interacción de CD40 sobre la célula B con CD154 (ligando CD40) sobre la célula T cooperadora.

En otras respuestas mediadas por células, el antígeno se procesa por macrófagos y los fragmentos se presentan junto con moléculas del MHC clase II en la superficie del macrófago. Estas moléculas interactúan con el receptor de la célula T. En las células T colaboradoras y éstas producen citocinas para estimular el crecimiento de las células CD4 apropiadas (T colaboradoras). Las citocinas importantes se describen brevemente después y en el cuadro 8-3.

Cuando existe un desequilibrio en el número de células activas CD4 y CD8, los mecanismos inmunitarios celulares

se deterioran notablemente. Por ejemplo, en el SIDA se pierde la proporción normal de células CD4 con CD8 (>1.5). Algunas células CD4 se destruyen por el VIH, lo que da lugar a una proporción CD4:CD8 de menos de 1 y origina una gran susceptibilidad para desarrollar muchas infecciones oportunistas y algunos tumores.

CITOCINAS

Las citocinas son los mediadores solubles de las respuestas de defensa del huésped, tanto específica como inespecífica. Como tales, tienen una función importante en los mecanismos efectoras involucrados en la eliminación de antígenos extraños, como los microorganismos. El cuadro 8-3 presenta algunas de las citocinas importantes.

Durante la respuesta inmunitaria se producen diferentes citocinas, las cuales pueden ser producidas por muchos tipos celulares y tener efectos variados sobre la misma célula o también actuar en tipos diferentes de células. Sus efectos están mediados por la unión a receptores específicos en las células blanco. Por tanto, las citocinas son como otras hormonas porque sus efectos están mediados por receptores que inducen una respuesta en las células blanco. Como puede apreciarse en el cuadro 8-3, las citocinas (igual que otras hormonas) con frecuencia actúan como factores del crecimiento.

HIPERSENSIBILIDAD

El término "hipersensibilidad" o "alergia" denota un estado en el cual la respuesta inmunitaria produce una reacción exagerada o inapropiada nociva para el huésped. En un individuo determinado estas reacciones ocurren clásicamente después del segundo contacto con un antígeno específico (alergeno). El primer contacto es un evento preliminar necesario que induce la sensibilización a ese alergeno.

Existen cuatro tipos principales de reacciones de hipersensibilidad. Los tipos I, II y III están mediados por anticuerpos; el tipo IV, por células.

Tipo I: Hipersensibilidad inmediata (anafiláctica)

La hipersensibilidad tipo I se manifiesta en las reacciones tisulares que ocurren en los primeros 5 min después de que el antígeno se combina con un anticuerpo compatible. Esto puede suceder como una anafilaxia sistémica (p. ej., después de la administración de proteínas heterólogas) o como una reacción local (p. ej., una alergia atópica como la fiebre del heno).

El mecanismo general de la hipersensibilidad inmediata comprende las siguientes etapas. Un antígeno induce la formación del anticuerpo IgE, el cual se enlaza firmemente por su porción Fc a un receptor y en las células cebadas en los eosinófilos; tiempo después, un segundo contacto del individuo con el mismo antígeno da lugar a la fijación del antígeno con la IgE enlazada a la célula; se entrecruzan las moléculas de IgE y se liberan de las células mediadoras far-

IFN
IFN
TNF
TNF
LT
IL-1
IL-2
IL-3
IL-4
IL-5
IL-7
IL-8
IL-10
IL-12
GM-
nia
M-CS
del
G-CS
del
macr
electr
de los
tardía
tenidos
A. M
Se des
tos y s
1. H
en
y
au
m
co
na
hu
re
Pr
pr
an
tag

Cuadro 8-3. Citocinas importantes

Nombre	Principal origen celular	Efectos biológicos selectos
IFN α , β	Leucocitos (IFN- α), fibroblastos (IFN- β)	Antiviral, pirogénico
IFN γ (interferón)	Células T, células NK	Activa fagocitos mononucleares
TNF α (factor α de necrosis tumoral)	Macrófagos, células NK	Activación celular, fiebre, caquexia, antitumoral
TNF β (factor β de necrosis tumoral), LT (linfotóxina)	Células T, células B	Activa leucocitos, antitumoral
IL-1 (interleucina-1)	Macrófagos, células epiteliales	Activación de células T y macrófagos, fiebre, caquexia
IL-2 (interleucina-2)	Células T	Crecimiento y activación de células T
IL-3 (interleucina-3)	Células T, células epiteliales del timo	Hematopoyesis
IL-4 (interleucina-4)	Células T, células cebadas células NK	Proliferación de células B y cambio a IgE
IL-5 (interleucina-5)	Células T	Diferenciación de eosinófilos
IL-7 (interleucina-7)	Células del estroma de la médula ósea	Diferenciación del linfocito progenitor
IL-8 (interleucina-8)	Macrófagos	Quimiotaxis para neutrófilos
IL-10 (interleucina-10)	Células T colaboradoras	Inhibe macrófagos.
IL-12 (interleucina-12)	Células B, macrófagos	Diferenciación de células Th1, activación de células NK
GM-CSF (factor estimulante de colo- nias del granulocitomacrófago)	Células T, macrófagos	Hematopoyesis de las células del linaje de granulocitos y monocitos
M-CSF (factor estimulante de colonias del monocito macrófago)	Macrófagos, etc.	Diferenciación a monocitos
G-CSF (factor estimulante de colonias del granulocito)	Fibroblastos, monocitos	Estimulan la producción de neutrófilos en la médula ósea

macrológicamente activas en los siguientes minutos. Los nucleótidos cíclicos y el calcio son esenciales en la liberación de los mediadores. Puede haber también una segunda "fase tardía" que dura varios días e implica la infiltración de los tejidos con neutrófilos, monocitos y otros leucocitos.

A. Mediadores de la hipersensibilidad tipo 1

Se describen a continuación algunos mediadores importantes y sus principales efectos.

1. **Histamina:** la histamina existe en estado preformado en las plaquetas y en los gránulos de las células cebadas y en los eosinófilos. Su liberación causa vasodilatación, aumento en la permeabilidad capilar y contracción del músculo liso (p. ej., broncoespasmo). Los antihistamínicos pueden bloquear los sitios receptores de la histamina y son relativamente eficaces en la rinitis alérgica. La histamina es uno de los mediadores principales en la reacción de tipo I.
2. **Prostaglandinas y tromboxanos:** los leucotrienos, los prostaglandinas y los tromboxanos derivan del ácido araquidónico por la vía de la ciclooxigenasa. Las prostaglandinas producen broncoconstricción, dilatación e

incremento de la permeabilidad de los capilares. Los tromboxanos producen agregación plaquetaria.

Estos mediadores, junto con citocinas como el TNF α y la IL-4 se conocen como mediadores secundarios de la reacción de tipo I.

B. Tratamiento y prevención de las reacciones anafilácticas

El tratamiento se orienta a la reversión de la acción de los mediadores al conservar permeable la vía aérea, proporcionar ventilación artificial en caso necesario y apoyar a la función cardíaca. Puede administrarse uno o más de los siguientes: adrenalina, antihistamínicos y corticosteroides.

La prevención depende de la identificación del alérgeno (mediante pruebas cutáneas) y de evitar su contacto posterior.

C. Atopia

Los estados de hipersensibilidad atópica tienen una fuerte predisposición familiar y se vinculan con aumento en las concentraciones de la IgE. La predisposición a la atopia es claramente genética, pero los síntomas se inducen por la exposición a alérgenos específicos. Estos antígenos son clásicamente ambientales (p. ej., alergia respiratoria al polen, plantas

del género ambrosia o polvo casero) o alimentos (p. ej., alergia intestinal a mariscos). Las manifestaciones clínicas comunes incluyen fiebre del heno, asma, eccema y urticaria. Muchas personas que la padecen tienen reacciones de tipo inmediato en las pruebas cutáneas (inyección, parche, rasguño) con los antígenos que las afectan.

Tipo II: hipersensibilidad

La hipersensibilidad tipo II implica la unión de anticuerpos (IgG o IgM) a los antígenos de la superficie celular o a las moléculas extracelulares. Los anticuerpos dirigidos a los antígenos de la superficie celular pueden activar el complemento (u otros efectores) para dañar a las células. Los anticuerpos (IgG o IgM) se adhieren al antígeno a través de la región Fab y actúan como un puente para el complemento a través de la región Fc. El resultado puede ser lisis mediada por el complemento, como ocurre en las anemias hemolíticas, en las reacciones por transfusión ABO y en la enfermedad hemolítica por Rh.

Fármacos como la penicilina pueden adherirse a las proteínas de superficie en los eritrocitos e iniciar la formación de anticuerpos. Estos anticuerpos autoinmunitarios pueden luego combinarse con la superficie celular y producir hemólisis. Algunos patógenos (como *Mycoplasma pneumoniae*) pueden inducir anticuerpos que reaccionan de manera cruzada con los antígenos de los eritrocitos y producir anemia hemolítica. En la fiebre reumática, los anticuerpos contra el estreptococo del grupo A reaccionan de manera cruzada con el tejido cardíaco. En el síndrome de Goodpasture, los anticuerpos se forman contra las membranas basales en los riñones y pulmones y dañan gravemente a las membranas a través de la actividad de los leucocitos atraídos por el complemento. En algunos casos, los anticuerpos contra los receptores de la superficie celular alteran la función sin lesionar la célula; por ejemplo, en la enfermedad de Graves, un autoanticuerpo se une al receptor de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) y al estimular la tiroides causa hipertiroidismo.

Tipo III: hipersensibilidad por complejos inmunitarios

Cuando el anticuerpo se combina con su antígeno específico se forman complejos inmunitarios. Normalmente se eliminan con rapidez por el sistema reticuloendotelial, pero en ocasiones permanecen y se depositan en los tejidos para producir varios trastornos. En infecciones virales o microbianas persistentes, los complejos inmunitarios pueden depositarse en órganos (como los riñones) y provocar su disfunción. En las enfermedades autoinmunitarias, los antígenos "propios" pueden inducir la formación de anticuerpos que se unen con los antígenos de los órganos o se depositan en órganos y tejidos como complejos, especialmente en articulaciones (artritis), riñones (nefritis) y vasos sanguíneos (vasculitis). Finalmente, los antígenos del ambiente, como las esporas de los hongos y ciertos fármacos, pueden causar la formación de complejos inmunitarios con enfermedad.

Siempre que se depositan complejos inmunitarios activan al sistema del complemento y los macrófagos y los neutrófilos son atraídos a ese sitio, donde producen inflamación

y lesión tisular. Existen dos variedades principales de la hipersensibilidad mediada por complejos inmunitarios. Una es local (**reacción de Arthus**), se produce típicamente en la piel cuando se inyecta una dosis pequeña del antígeno y los complejos inmunitarios se forman localmente. Participan los anticuerpos IgG dando como resultado la activación del complemento llevando a la activación de células cebadas y de neutrófilos, liberando mediadores e incrementando la permeabilidad vascular. Por lo regular esto ocurre en cerca de 12 h. Una segunda variante de la hipersensibilidad tipo III es la enfermedad sistémica por complejos inmunitarios. Existen varios ejemplos, incluyendo enfermedades como la glomerulonefritis postestreptocócica aguda.

La **glomerulonefritis postestreptocócica aguda** es una enfermedad por complejos inmunitarios bien conocida. Su aparición ocurre varias semanas después de una infección, particularmente de la piel, por estreptococo β hemolítico del grupo A y frecuentemente se presenta con una infección debida a estreptococos del tipo nefritogénico. Típicamente, el nivel de complemento es bajo, lo cual sugiere una reacción antígeno-anticuerpo con consumo de complemento. Depósitos de agregados de inmunoglobulina y del componente C3 del complemento se observan a lo largo de las membranas basales glomerulares cuando son teñidas con inmunofluorescencia, lo cual sugiere una reacción antígeno-anticuerpo con consumo de complemento. Es probable que los complejos antígeno estreptocócico-anticuerpo se filtren por el glomerulo, fijen complemento y atraigan neutrófilos y que el proceso inflamatorio resultante dañe los riñones.

Tipo IV: hipersensibilidad mediada por células (tardía)

La hipersensibilidad mediada por células es una función que no es de los anticuerpos sino de los linfocitos T específicamente sensibilizados; éstos activan a los macrófagos para producir una respuesta inflamatoria. La respuesta es tardía; esto es, se inicia 2 o 3 días después del contacto con el antígeno y a menudo se prolonga por varios días.

A. Hipersensibilidad por contacto

La hipersensibilidad por contacto se presenta después de la sensibilización con químicos simples (p. ej., níquel, formaldehído), materiales de plantas (hiedra, roble), fármacos aplicados tópicamente (sulfonamidas, neomicina), algunos cosméticos, jabones y otras sustancias. En todos los casos moléculas pequeñas entran a la piel y después, al actuar como haptenos, se adhieren a proteínas del cuerpo para funcionar como antígenos completos. Se induce la hipersensibilidad mediada por células, particularmente en la piel. Cuando ésta entra otra vez en contacto con el agente agresor, la persona sensibilizada desarrolla eritema, exantema, formación de vesículas, eccema o necrosis de la piel dentro de 12 a 48 h. La prueba del parche en una pequeña área de la piel puede a veces identificar al antígeno agresor. Las recurrencias se previenen en lo sucesivo evitando el contacto con el material. En la sensibilidad por contacto, la célula presentadora de antígeno es tal vez la célula de Langerhans en la epidermis, la cual interactúa con las células inflamatorias T CD4 Th1 que manejan la respuesta.

B. Hipersensibilidad tipo tuberculina

La hipersensibilidad tardía a los antígenos de los microorganismos se presenta en muchas enfermedades infecciosas y se ha utilizado como una ayuda en el diagnóstico. Se ejemplifica por la reacción de la tuberculina. Cuando una pequeña cantidad de ésta se inyecta en la epidermis de un paciente expuesto previamente al *Mycobacterium tuberculosis*, existe una pequeña reacción inmediata; sin embargo, gradualmente se desarrolla induración y enrojecimiento, los cuales alcanzan un máximo en 24 a 72 h. Se acumulan células mononucleares en el tejido subcutáneo y se encuentran en abundancia células inflamatorias CD4 TH1. Una prueba cutánea positiva indica que la persona ha sido infectada con el agente, pero no implica la presencia de enfermedad; sin embargo, un cambio reciente de negativa a positiva en la respuesta a la prueba cutánea sugiere infección reciente y posible actividad actual.

Una respuesta positiva a la prueba cutánea ayuda en el diagnóstico. Por ejemplo, en la lepra, una prueba cutánea positiva a la lepromina indica enfermedad tuberculoid con inmunidad activa mediada por células; mientras que una prueba negativa sugiere lepra lepromatosa con inmunidad débil mediada por células.

RESPUESTAS INMUNITARIAS INAPROPIADAS A LOS AGENTES INFECCIOSOS

Existe un número considerable de enfermedades hereditarias con deficiencia inmunitaria que puede afectar la respuesta del huésped a la infección. Se remite al lector a otros textos para mayores detalles, pero en resumen, estos defectos pueden resultar por cambios diversos en el sistema inmunitario, los cuales incluyen la disminución en las concentraciones de anticuerpos, alteraciones en las células fagocíticas y ausencia de células efectoras. Cualquiera de estos cambios puede crear una situación en la que el huésped sea muy susceptible a la infección. Algunos de estos casos se han mencionado a lo largo de este capítulo: por ejemplo, la enfermedad **granulomatosa crónica** que disminuye la actividad antibacteriana.

En algunos casos, el patógeno finalmente causa supresión inmunitaria: un ejemplo es la infección con el VIH, que altera la inmunidad de las células T y propicia la infección posterior con **patógenos oportunistas**. En otras situaciones, algunas bacterias liberan toxinas que funcionan como superantígenos y estimulan desde un principio la proliferación de grandes cantidades de células T, pero debido a la liberación de citocinas de las células T se suprime finalmente la respuesta inmunitaria y se permite que el patógeno se multiplique.

El patógeno mismo puede tener mecanismos para evitar activamente la respuesta inmunitaria. Por ejemplo, varios patógenos alteran por mutación su estructura antigénica para evadir las defensas inmunitarias. El virus de la influenza sufre variación antigénica por dos mecanismos de mutación llamados **desplazamiento antigénico** y **cambio antigénico**, los cuales crean nuevos fenotipos antigénicos que evaden la inmunidad actual del huésped y permiten la reinfección con el virus. Otros patógenos tienen estrategias similares de evasión; por ejemplo, los tripanosomas alteran

sus glucoproteínas de superficie y los estreptococos modifican sus antígenos superficiales de carbohidratos.

Ejemplos de otras estrategias, se comentan antes como las proteínas virales que inhiben el desarrollo de una respuesta inmunitaria eficaz. Una estrategia utilizada por algunos patógenos es volverse inactivos; por ejemplo, el virus del herpes simple se vuelve inactivo en su transcripción, en un estado conocido como **latencia**, después de la infección de ciertas células nerviosas y puede permanecer en este estado hasta que decline la respuesta inmunitaria para iniciar entonces un nuevo ciclo de replicación viral.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS INMUNOLÓGICAS

Las reacciones de antígenos y anticuerpos son muy específicas. Un antígeno reacciona sólo con un anticuerpo inducido por los antígenos de su misma clase o por uno muy semejante. Debido a esta gran especificidad, las reacciones entre un antígeno y un anticuerpo pueden usarse para identificar a uno por medio del otro.

Las reacciones antígeno-anticuerpo se utilizan para identificar componentes específicos en mezclas con uno u otro. Los microorganismos y otras células tienen diversos antígenos y pueden, por consiguiente, reaccionar con muchos anticuerpos diferentes. Los anticuerpos monoclonales son herramientas excelentes para la identificación de antígenos porque tienen una sola especificidad conocida y son homogéneos. Los antiseros generados como parte de una respuesta inmunitaria contienen mezclas complejas de anticuerpos y son heterogéneos, esto los hace menos útiles para pruebas específicas. La posibilidad de reacciones cruzadas entre antígenos relacionados puede limitar la especificidad de la prueba.

Análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA)

El análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas, que tiene muchas variaciones, depende de la conjugación de una enzima con un anticuerpo. La enzima se detecta por análisis de su actividad con el sustrato.

Para medir anticuerpos, los antígenos conocidos se fijan a una fase sólida (p. ej., placas de plástico para microdilución), se incuban con diluciones del anticuerpo en estudio, se lava y se reincuba con una antiinmunoglobulina marcada con una enzima (p. ej., la peroxidasa de rábano). La actividad de la enzima, medida con la adición del sustrato específico y el desarrollo de una reacción de color es una función directa de la cantidad de anticuerpo enlazado. Este tipo de análisis se utiliza, por ejemplo, para detectar anticuerpos a proteínas VIH en las muestras de sangre.

Inmunofluorescencia

Los colorantes fluorescentes (p. ej., fluoresceína y rodamina) pueden adherirse de manera covalente a moléculas de anticuerpos y ser visibles con luz ultravioleta en el microscopio

de fluorescencia. Estos anticuerpos marcados pueden usarse para identificar antígenos (p. ej., en la superficie de las bacterias como estreptococos o treponemas) o en las células en cortes histológicos u otros tipos de muestras. Una reacción de **inmunofluorescencia directa** sucede cuando anticuerpos conocidos y marcados interactúan de manera directa con el antígeno desconocido. Una reacción de **inmunofluorescencia indirecta** se obtiene cuando se utiliza un proceso en dos etapas; por ejemplo, el antígeno conocido se fija a una laminilla, se agrega el suero desconocido y se lava la preparación. Si el anticuerpo sérico desconocido es el antígeno, permanece fijo a éste en la laminilla y se percibe agregando una antiinmunoglobulina marcada con fluorescencia o por otro reactivo específico al anticuerpo, como la proteína A del estafilococo, y observando la laminilla con microscopía de luz ultravioleta.

Otro uso de los anticuerpos marcados con fluorescencia es el conteo y clasificación de las células por **citometría de flujo** o en el clasificador de células activadas por fluorescencia (FACS, del inglés *fluorescence-activated cell sorter*).

La citometría de flujo analiza una sola suspensión de células que fluye a través de un haz de rayos láser para medir la cantidad relativa de luz esparcida por las partículas microscópicas (se obtiene información acerca del tamaño relativo y de la granularidad) y la fluorescencia relativa de ellas. En una mezcla de leucocitos es relativamente fácil separar a las células en clases principales; por ejemplo, los linfocitos pequeños se separan de los granulocitos que son más grandes y contienen más gránulos (esparcen más luz). Con la disponibilidad de equipos de anticuerpos monoclonales (que pueden detectarse por anticuerpos fluorescentes) para las proteínas de la superficie celular, también es posible diferenciar subpoblaciones de células; por ejemplo, las células T colaboradoras que expresan CD4 de las células T citotóxicas que expresan CD8; o separar células T de las células B que expresan anticuerpos. Esta tecnología se utiliza ampliamente tanto en la medicina clínica como en la investigación biomédica; por ejemplo, para enumerar las células T CD4 en los pacientes VIH positivos o para diferenciar las células tumorales de los glóbulos blancos normales.

Inmunoblotting

El **immunoblotting** (a veces denominado "Western blotting") es un método para identificar a un antígeno particular en una mezcla compleja de proteínas. Esta mezcla se somete a una electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE) y dodecil sulfato de sodio (SDS). Esto separa a las proteínas de acuerdo con su peso molecular. El gel se cubre luego con una membrana (por lo general una hoja de nitrocelulosa) y las proteínas se "transfieren" a ésta por electroforesis. La membrana de nitrocelulosa (*blot*) adquiere una réplica de las proteínas separadas por SDS-PAGE. Durante la transferencia, se elimina gran parte del SDS de las proteínas y por lo menos algunas de ellas vuelven a plegarse y recuperan suficiente conformación, de tal manera que los anticuerpos pueden reaccionar con las proteínas en la membrana.

La membrana de nitrocelulosa reacciona luego con una enzima marcada como anticuerpo en una prueba directa o indirecta, con anticuerpo seguido por una enzima marcada como antiinmunoglobulina. El antígeno proteínico se hace entonces

visible como una banda en la membrana. No se detecta ninguna de las otras proteínas de la mezcla. Esta técnica se utiliza, por ejemplo, para confirmar una prueba de ELISA VIH positiva, ya que demuestra la presencia de anticuerpos a proteínas VIH específicas en el suero de un paciente.

Preguntas de revisión

- ¿Cuál es una característica de la respuesta inmune y no de la respuesta innata?
 - Barreras físicas
 - Barreras químicas
 - Expansión clonal de células efectoras
 - Mediadores de la inflamación
 - Fagocitosis
- Los anticuerpos que surgen en el suero de un individuo inmunizado con un solo complejo inmunitario que contiene muchos epítopos (determinantes antígenicos) son sometidos a electroforesis y luego a análisis estructural (secuenciación de aminoácidos, etc.). ¿Cuál de los siguientes describe mejor los anticuerpos que son producidos?
 - Homógeno en estructura química
 - Monoclonal
 - Heterógeno en estructura química
 - Un solo pinchazo preciso sobre el gel para electroforesis
 - Una sola proteína pura
- ¿Cómo se logra, principalmente, la generación de diversidad en la respuesta inmune?
 - Recombinación entre conjuntos de segmentos de genes para generar un repertorio de moléculas que reconocen antígenos.
 - Una enorme cantidad de DNA dedicada a genes para moléculas que reconocen antígenos
 - Sólo diversificación de la línea germinal de genes que codifican moléculas que reconocen antígenos
 - Sólo diversificación somática de genes que codifican moléculas que reconocen antígenos.
 - "Instrucción" antigénica de un pequeño conjunto de linfocitos para producir un despliegue infinito de moléculas que reconocen antígenos.
- ¿Qué mecanismo genético incrementa el número de diferentes moléculas de anticuerpos durante una respuesta inmune sin incrementar la diversidad de la reserva de la especificidad de los receptores antígenicos?
 - Recombinación del segmento V del gen
 - Cambio de clase
 - Hipermutación somática
 - Variabilidad de empalme debida a empalme impreciso de V, D y J
 - Duplicación genética, por ejemplo, múltiples segmentos genéticos V, D y J
- ¿Cuál es la función principal de las moléculas MHC clase I y clase II?
 - Ellas frustran los esfuerzos de los cirujanos de trasplantes
 - Ellas unen péptidos antígenicos para presentarlos a los receptores antígenicos específicos de las células B
 - Ellas contribuyen a la endocitosis de antígenos por los fagocitos
 - Ellas, directamente, unen carbohidratos antígenicos para exponerlos a las células T
 - Ellas despliegan péptidos de antígenos para que los receptores específicos de antígenos de las células T los examinen.

6. Las moléculas MHC clase I necesitan unir péptidos de antígeno para plegarse apropiadamente y expresarse en la superficie de la célula. ¿Qué problema de salud esperarías que fuese el más común en un niño con un defecto en la función de transportación de péptidos (TAP) encontrada en el retículo endoplásmico?
 - A. Infecciones virales crónicas de las vías respiratorias altas
 - B. Infecciones parasitarias
 - C. Infecciones por bacterias encapsuladas
 - D. Alergias graves a las mascotas domésticas
 - E. Enfermedad autoinmune
7. ¿De qué depende más la presentación de un péptido de antígeno particular en asociación con moléculas MHC clase I o clase II en la superficie de la célula?
 - A. Las diferencias de especificidad de unión intrínsecas de las moléculas MHC clase I y clase II
 - B. Las diferencias en la secuencia de aminoácidos de péptidos de antígeno, particularmente con respecto a ciertos residuos de sostén.
 - C. Diferencias polimórficas entre las moléculas MHC clase I y clase II
 - D. La ruta inicial que los péptidos de antígeno siguen a través de la célula, por ejemplo, vesícula endocítica versus proteína viral
 - E. El origen del péptido de antígeno, por ejemplo, proteína bacteriana o proteína viral
8. Los superantígenos son toxinas de péptidos liberadas por cepas virulentas de bacterias estafilocócicas. ¿A qué entidad se unen estos superantígenos para producir su efecto?
 - A. Cadenas TCR γ
 - B. Cadenas TCR β
 - C. Moléculas MHC clase I
 - D. Antagonistas de péptidos
 - E. Sólo receptores de células T γ/δ
9. ¿Qué clase de molécula de anticuerpo tiene la capacidad de cruzar la placenta?
 - A. IgG
 - B. IgA
 - C. IgM
 - D. IgE
 - E. IgD
10. Un niño de dos años de edad con infecciones bacterianas recurrentes que producen otitis media y neumonía tiene, muy probablemente, deficiencia de:
 - A. Células T
 - B. Fagocitos
 - C. Células B
 - D. Moléculas TAP-1 / TAP-2
 - E. Inhibidor de la esterasa C1
11. ¿Qué inicia la vía química de activación de complemento de manera más eficiente?
 - A. IgG
 - B. Glicolípidos bacterianos que contienen manosa
 - C. Superficies microbianas
 - D. Complejos inmunitarios de antígeno IgM
 - E. Endotoxinas
12. Los procesos de selección positiva y negativa en el timo generan un repertorio de células T que es autotolerante y autolimitado. Esto significa que las células T maduras que se desarrollan tienen un repertorio de receptores que son específicos para:
 - A. Péptidos de antígenos no propios unidos a moléculas MHC no propias
 - B. Péptidos de antígenos propios unidos a moléculas MHC propias
 - C. Péptidos de antígenos propios unidos a moléculas MHC no propias
 - D. Péptidos de antígenos no propios unidos a moléculas MHC propias
 - E. Cualquier péptido de antígeno unido a cualquier molécula MHC
13. ¿Qué par de "ligando-receptor" proporciona la crucial segunda señal para activación de las células T inofensivas por un APC en un órgano linfático secundario?
 - A. CD80 (B7)/CD 28
 - B. MHC clase II/CD4
 - C. MHC clase I/CD8
 - D. MHC clase II/TCR
 - E. ICAM-1/LFA-1
14. Un hombre de 20 años de edad se presenta en la sala de urgencias con disnea, fatiga y marcada palidez de tegumentos. Dos días antes le habían administrado penicilina para una infección. Ya anteriormente le habían dado penicilina sin que presentara algún problema y aseguró no ser "alérgico" a ésta. Las pruebas de laboratorio demostraron la presencia de anticuerpos contra la penicilina en el suero del paciente y el ataque a sus propios glóbulos rojos. Se le diagnosticó anemia hemolítica inmunitaria. ¿Qué tipo de reacción de hipersensibilidad está sufriendo este paciente?
 - A. Tipo I
 - B. tipo II
 - C. Tipo III
 - D. Tipo IV (DTH)
15. ¿Cuál de los siguientes tipos celulares expresa receptores para Ig E sobre su superficie celular que estimula a la célula para organizar una respuesta a parásitos como los gusanos?
 - A. Células T
 - B. Células B
 - C. Promonocitos
 - D. Células NK
 - E. Células cebadas
16. ¿Qué prueba inmunológica se utiliza ampliamente para enumerar y coleccionar de manera precisa células que expresan un antígeno unido por un anticuerpo monoclonal etiquetado por fluorescencia?
 - A. ELISA
 - B. Inmunofluorescencia directa
 - C. Western blotting
 - D. Clasificación celular por fluorescencia activada
 - E. Inmunofluorescencia activada

Respuestas: 1 = C; 2 = C; 3 = A; 4 = B; 5 = E; 6 = A; 7 = D; 8 = B; 9 = A; 10 = C; 11 = D; 12 = D; 13 = A; 14 = B; 15 = E; 16 = D

GLOSARIO

- Alelos:** Variantes de un solo *locus* genético.
- Anafilotoxina:** Fragmentos de proteínas del complemento liberados durante la activación. Incrementa la permeabilidad vascular.
- Anticuerpo (Ac):** Proteína producida como resultado de la interacción con un antígeno. La proteína puede

* Modificado y reproducido con autorización de Sites DP, Stobo JD, Wells JV (editores): *Basic & Clinical Immunology*, 6th ed. Originalmente publicado por Appleton & Lange. Derechos reservados © 1987 por The McGraw-Hill Companies, Inc.

combinarse con el antígeno que estimuló su producción.

Anticuerpos monoclonales: Cada linfocito B produce anticuerpos de una especificidad única; no obstante, las células B normales no crecen de manera indefinida. Si las células B se fusionan con una célula de mieloma a través de la hibridación de células somáticas, y se seleccionan células fusionadas que secretan la especificidad deseada de un anticuerpo, entonces se obtiene una línea celular inmortal productora de antígenos conocida como hibridoma, y estas células híbridas producen cuerpos monoclonales.

Antígeno (Ag): Sustancia que puede reaccionar con un anticuerpo. No todos los antígenos pueden inducir la producción de anticuerpos; los que pueden hacerlo se llaman inmunógenos.

Células asesinas naturales (células NK): Células linfoides grandes sin receptores específicos para antígenos conocidos. Pueden reconocer y matar ciertas células anormales, como las células tumorales, y ejercer una función importante en la respuesta natural.

Célula B (también linfocito B): Estrictamente, la célula derivada de la bolsa de Fabricio en las especies aviares y, por analogía, la célula derivada del equivalente de dicha bolsa en las especies no aviares. Las células B son las precursoras de las células plasmáticas productoras de anticuerpos.

Células T citotóxicas: Células T que pueden matar a otras células, por ejemplo, las células infectadas con patógenos intracelulares.

Células T (también linfocito T): Célula derivada del timo que participa en diversas reacciones inmunitarias mediadas por células.

Célula plasmática: Célula B con diferenciación terminal que secreta anticuerpos.

Célula polimorfonuclear (PMN): También conocida como neutrófilo o granulocito. Un PMN se deriva de una célula hematopoyética de la médula ósea y se caracteriza por un núcleo multilobulado. Migra de la circulación al sitio de inflamación por quimiotaxis y fagocita bacterias u otras partículas.

Citólisis: Lisis de bacterias o de células, como las tumorales o los eritrocitos, por inserción del complejo de ataque a la membrana proveniente de la activación del complemento.

Clases de inmunoglobulinas: Una subdivisión de moléculas de inmunoglobulina basada en diferencias estructurales (secuencia de aminoácidos). En los humanos existen cinco clases de inmunoglobulinas: IgG, IgM, IgA, IgE, e IgD.

Complejo de ataque a la membrana: El producto final de la activación de la cascada del complemento que contiene C5, C6, C7 y C8 (y C9). Este complejo perfora a la membrana de las bacterias gramnegativas destruyéndolas y en los eritrocitos y otras células producen lisis.

Complejo principal de histocompatibilidad (MHC): Grupo de genes cercanos entre sí localizados en el cromosoma humano 6, que codifica para los antígenos de histocompatibilidad (moléculas MHC).

Complemento: Grupo de proteínas plasmáticas que son el mediador principal de las reacciones antígeno-anticuerpo.

Endotoxinas: Toxinas bacterianas liberadas de las células dañadas.

Epitopo: Sitio en el antígeno reconocido por un anticuerpo. También se conoce como determinante antigénico.

Hapteno: Molécula que no es inmunógena por sí misma pero que puede reaccionar con un anticuerpo específico.

Histocompatible: Que comparte antígenos de trasplante.

Inflamación: Acumulación local de líquido y células después de la lesión o la infección.

Inmunidad:

1) **Inmunidad innata (natural):** Resistencia inespecífica que no se adquiere a través del contacto con un antígeno. Incluye a las barreras de la piel y de las mucosas a los agentes infecciosos y diversos factores inmunitarios inespecíficos. Puede variar con la edad y con las actividades hormonal o metabólica.

2) **Inmunidad adquirida:** Protección adquirida por la introducción deliberada de un antígeno en un huésped. La inmunidad activa es específica y está mediada por anticuerpos o por células linfoides (o por ambos).

Inmunidad humoral: Perteneciente a la inmunidad en un líquido corporal, se usa para denominar a la inmunidad mediada por anticuerpos y complementos.

Inmunidad mediada por células (celular): Inmunidad en la que predomina la participación de linfocitos y macrófagos. La inmunidad mediada por células es un término aplicado en general a la reacción de hipersensibilidad tipo IV (véase después).

Inmunoglobulina: Glucoproteína compuesta de cadenas L y H que funciona como anticuerpo. Todos los anticuerpos son inmunoglobulinas, pero no todas tienen función de anticuerpos.

Interferón: Grupo heterogéneo de proteínas de bajo peso molecular elaboradas por las células infectadas del huésped que protegen a las células no infectadas de la infección viral. Los interferones, que son citocinas, también tienen funciones inmunomoduladoras.

Leucocito: Término genérico para las células blancas.

Linfocito: Célula mononuclear de 7 a 12 µm de diámetro que contiene un núcleo con cromatina compacta y un pequeño arillo de citoplasma. Los linfocitos incluyen a las células T y B, las cuales tienen funciones importantes en la inmunidad.

Macrófago: Célula fagocítica mononuclear derivada de los monocitos de la médula ósea; se encuentra en los tejidos y en el sitio de inflamación. Los macrófagos tienen funciones complementarias en la inmunidad celular, en particular como células presentadoras de antígenos (CPA).

Monocito: Eritrocito fagocítico circulante que se transforma en macrófagos tisulares.

Moléculas de adhesión: Por ejemplo, las integrinas y selectinas. Éstas son moléculas que median la unión

de las células a otras células o a una matriz extracelular de moléculas como la fibronectina.

Opsonina: Sustancia capaz de facilitar la fagocitosis. Los anticuerpos y el complemento son las dos principales opsoninas.

Opsonización: La envoltura de un antígeno o partícula (p. ej., agente infeccioso) por sustancias como anticuerpos, componentes del complemento, fibronectina, etc., los cuales facilitan la captación de la partícula extraña por la célula fagocítica.

Quiniocinas: Citocinas de bajo peso molecular que estimulan la movilización leucocitaria.

Quimiotaxis: Proceso por el cual las células fagocíticas son atraídas a la vecindad de un patógeno invasor.

Reacciones de hipersensibilidad:

1) **Hipersensibilidad mediada por anticuerpos:**

Tipo I. Inmediata: Inducción de anticuerpos IgE por alérgenos y su unión a través de su receptor Fc a las células cebadas y a los eosinófilos. Después de un segundo encuentro con el antígeno, la IgG enlazada se entrecruza e induce la desgranulación y la liberación de mediadores, especialmente de histamina.

Tipo II: Los antígenos se combinan con anticuerpos en la superficie celular, lo cual induce lisis mediada por el complemento (p. ej., transfusión o

reacciones Rh), u otro daño citotóxico a la membrana (p. ej., anemia hemolítica autoinmunitaria).

Tipo III. Complejos inmunitarios: Se depositan en los tejidos complejos inmunitarios antígeno-anticuerpo, se activa el complemento, las células polimorfonucleares son atraídas al sitio y producen daño tisular.

2) **Hipersensibilidad mediada por células:**

Tipo IV. Tardía: Los linfocitos T sensibilizados por un antígeno liberan linfocinas al entrar en contacto con el mismo antígeno. Las linfocinas causan inflamación y activan macrófagos.

Respuesta inmunitaria: Desarrollo de resistencia (inmunidad) a una sustancia extraña (p. ej., agente infeccioso). Puede ser mediada por anticuerpos (humoral), células (celular), o por ambos.

Subclases de inmunoglobulinas: Subdivisión de las clases de inmunoglobulinas con base en diferencias estructurales y antigénicas en las cadenas H. Existen cuatro subclases para la IgG humana: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

Timocitos: Células T en desarrollo que se encuentran en el timo.

Vacunación: Inducción de la inmunidad por inyección de un patógeno muerto o atenuado.

REFERENCIAS

- Abbas AK, Lichtman AH: *Cellular and Molecular Immunology*. 5th ed. Saunders, 2003.
- Benjamin E, Coico R, Sunshine G: *Immunology*. 5th ed. Wiley-Liss, 2003.
- Coligan JE et al.: *Current Protocols in Immunology*. [Regular updates by section.]
- Gallin JI, Snyderman R: *Inflammation*. 3th ed. Williams & Wilkins, 1999.
- Janeway CA Jr, Travers P: *Immunobiology*. 5th ed. Elsevier/Garland, 2001.
- Nairn R, Helbert M: *Immunology for Medical Students*. Mosby, 2002.
- Parslow TG et al. (editor): *Medical Immunology*. 10th ed. McGraw-Hill, 2001.
- Paul WE (editor): *Fundamental Immunology*. 5th ed. Lippincott-Raven, 2003.

SECCIÓN III

Bacteriología

Patogenia de la infección bacteriana

La patogenia de la infección bacteriana incluye el inicio del proceso infeccioso y los mecanismos que inducen el desarrollo de signos y síntomas de la enfermedad. Las características de las bacterias patógenas incluyen transmisibilidad, adherencia a las células del huésped, invasión de células y tejidos del huésped, toxigenicidad y capacidad para evadir el sistema inmunitario del huésped. Muchas infecciones causadas por bacterias comúnmente consideradas patógenas son imperceptibles o asintomáticas. La enfermedad aparece si la bacteria o la reacción inmunitaria a su presencia producen suficiente daño a la persona.

Los términos empleados con frecuencia para describir aspectos de la patogenia se definen en el glosario. Remítase al glosario del capítulo 8 para la definición de los términos empleados en inmunología y para describir los aspectos de la respuesta del huésped a la infección.

IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS QUE CAUSAN ENFERMEDAD

Los humanos y los animales tienen una flora normal abundante que generalmente no causa enfermedad (capítulo 11), pero establece un equilibrio que garantiza la supervivencia, el crecimiento y la propagación tanto de la bacteria como del huésped. Algunas bacterias son causa importante de enfermedad y, por lo general, se cultivan con la flora normal (p. ej., *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*). En ocasiones también se encuentran bacterias claramente patógenas (p. ej., *Salmonella typhi*), pero la infección permanece latente o subclínica y el huésped es "portador" de la bacteria.

A veces es difícil demostrar que una especie bacteriana específica causa una enfermedad particular. En 1884, Robert Koch propuso una serie de postulados que se aplicaron extensamente para relacionar especies bacterianas específicas con una enfermedad particular. Los postulados de Koch se resumen en el cuadro 9-1.

Dichos postulados han permanecido como la base principal de la microbiología; no obstante, a partir de finales del siglo XIX se ha demostrado que muchos microorganismos no satisfacen los criterios de los postulados como causantes de enfermedad. Por ejemplo, el *Treponema pallidum* (que causa la sífilis) y el *Mycobacterium leprae* (que causa la lepra) no crecen *in vitro*; sin embargo, existen modelos ani-

males de la infección con estos agentes. En otro ejemplo, en la *Neisseria gonorrhoeae* (gonorrea) no existe un modelo animal de la infección, pero la bacteria puede cultivarse con facilidad *in vitro*; se ha producido infección experimental en el ser humano, la cual sustituye al modelo animal.

En otros casos, los postulados de Koch se satisfacen al menos de manera parcial, demostrando la patogenicidad de la bacteria en un modelo de infección *in vitro* en lugar de un modelo animal. Por ejemplo, algunas variedades de diarrea inducidas por *E. coli* (capítulo 16) se definen por la interacción de *E. coli* con células huésped en cultivo.

Cuando se investiga un microorganismo como posible causa de la enfermedad, también debe considerarse la respuesta inmunitaria del huésped. Así, una elevación de anticuerpos específicos durante la recuperación de la enfermedad es un apoyo importante a los postulados de Koch.

En la actualidad, la genética microbiana abre nuevas fronteras al estudio de bacterias patógenas y a la diferenciación de las no patógenas. La clonación molecular también permite a los investigadores aislar y modificar los genes específicos de la virulencia y estudiarlos en modelos de infección. La capacidad para estudiar los genes que se relacionan con la virulencia condujo a proponer una modalidad de postulados moleculares de Koch. Estos postulados se resumen en el cuadro 9-1.

Es difícil o imposible hacer crecer algunos patógenos en cultivo, y por esta razón no puede establecerse la causa de las enfermedades en términos de los postulados de Koch o de los postulados moleculares de Koch. La reacción en cadena de la polimerasa se emplea para amplificar secuencias específicas del ácido nucleico del microorganismo a partir de tejidos o líquidos del huésped. Las secuencias se emplean para identificar a los microorganismos infecciosos. En el cuadro 9-1 se presentan los criterios moleculares para establecer la causalidad de una infección microbiana. Este criterio se emplea para conocer las causas de algunas enfermedades, las cuales incluyen enfermedad de Whipple (*Tropheryma whippelii*), angiomas bacilares (*Bartonella henselae*), ehrlichiosis monocítica humana (*Ehrlichia chaffeensis*), síndrome del xantavirus pulmonar (virus sin nombre) y sarcoma de Kaposi (herpesvirus humano 8).

El estudio de infecciones y enfermedades mediante la aplicación de principios como los postulados de Koch permite clasificar las bacterias como patógenas, patógenas oportunistas o no patógenas. Algunas especies bacterianas siempre

Cuadro 9-1. Criterios para establecer las causas de las enfermedades infecciosas

Postulados de Koch	Postulados moleculares de Koch	Criterios para establecer la causa molecular de una enfermedad microbiana
1. El microorganismo debe encontrarse en todos los casos de la enfermedad en cuestión, y su distribución en el cuerpo debe concordar con las lesiones observadas	1. El fenotipo o característica bajo investigación debe estar significativamente relacionado con las cepas patógenas de una especie y no con cepas no patógenas	1. La secuencia del ácido nucleico de un presunto patógeno debe estar presente en la mayor parte de los casos de la enfermedad infecciosa, de preferencia en sitios anatómicos donde la patología es evidente
2. El microorganismo debe crecer en cultivo puro <i>in vitro</i> (o fuera del cuerpo del huésped) durante varias generaciones	2. La inactivación específica del gen o genes relacionados con el rasgo sospechoso de virulencia debe conducir a una disminución cuantificable de la patogenicidad o de la virulencia	2. La secuencia del ácido nucleico de un supuesto patógeno debe estar ausente en la mayor parte de los testigos sanos. Si se detecta la secuencia en controles sanos, su prevalencia debe ser baja en comparación con la de quienes padecen la enfermedad, y el número de copias debe ser menor
3. Cuando se inocula un cultivo puro a una especie animal susceptible se debe producir la enfermedad típica	3. La reversión o sustitución del gen mutado por el gen "de tipo nativo" debe restablecer la patogenicidad o la virulencia	3. El número de copias de una secuencia de ácido nucleico relacionada con el patógeno debe disminuir o ser indetectable cuando la enfermedad se resuelve (p. ej., con tratamiento eficaz) y aumentar en las recaídas
4. El microorganismo debe ser aislado más de una vez de lesiones causadas por estas enfermedades producidas experimentalmente		4. La presencia de una secuencia de ácido nucleico relacionada con el patógeno en personas sanas debe ayudar a predecir el desarrollo subsecuente de la enfermedad
		5. La naturaleza inferida del patógeno a partir del análisis filogenético de la secuencia del ácido nucleico debe ser compatible con las características biológicas conocidas de microorganismos estrechamente relacionados y con la naturaleza de la enfermedad. El significado de una secuencia microbiana detectada aumenta cuando el genotipo microbiano (filogenia) predice el fenotipo microbiano y la respuesta del huésped (p. ej., morfología microbiana, serología, patología, características clínicas de la enfermedad)
		6. Entre la secuencia del ácido nucleico relacionada con el patógeno y la patología debe existir una interrelación dosis-respuesta evidente. El tejido enfermo debe mostrar un gran número de copias de la secuencia en comparación con los tejidos normales. Los pacientes con enfermedad grave deben mostrar una mayor carga de secuencias microbianas en comparación con pacientes con enfermedad leve. La hibridación <i>in situ</i> o la PCR deben localizar la secuencia relacionada con el patógeno en regiones de patología visible y sitios donde se sospecha la infección
		7. Estas secuencias basadas en datos deben ser reproducibles

se consi
plos incl
berculos
satisface
pecies co
humanos
enfermed
flora gas
es causa
viajero y
de enfer
causan de
modelos
ciona sig
dad. Otr
Stenotro
sólo caus
debilitad

TRANS

Las bacter
biente, inc
residen y
supervive
Cuando p
en vez de l
malmente
mitirse de
Algun
en humano
humanos d
monella y
transmiten
bacterias p
del ciclo bi
ganismos r
producen p
causa pest
roedores y
humanos e
trax) vive e
mite al ser h
animales in
el ambiente
C. perfring
mo)) o cua
(p. ej., el *C.*
C. tetani (q
Las ma
diarrea, tos
gunismos, c
tos agentes
incrementa
siguientes:
a veces con
esa agua o
grejos pued
contaminad

se consideran patógenas y su presencia es anormal; los ejemplos incluyen *Mycobacterium tuberculosis* (que causa tuberculosis) y *Yersinia pestis* (que causa peste). Estas bacterias satisfacen los criterios de los postulados de Koch. Otras especies comúnmente forman parte de la flora normal de los humanos (y animales), pero con frecuencia también causan enfermedad. Por ejemplo, la *Escherichia coli* es parte de la flora gastrointestinal normal de los humanos, pero también es causa común de infección en las vías urinarias, diarrea del viajero y otras enfermedades. Las cepas de *E. coli* causantes de enfermedad pueden diferenciarse de aquellas que no la causan determinando: 1) si son virulentas en animales o en modelos de infección *in vitro* y 2) si su base genética se relaciona significativamente con la producción de la enfermedad. Otras bacterias (p. ej., especies de *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas maltophilia* y muchos hongos y mohos) sólo causan enfermedad en personas inmunosuprimidas y debilitadas, y son patógenos oportunistas.

TRANSMISIÓN DE LA INFECCIÓN

Las bacterias (y otros microorganismos) se adaptan al ambiente, incluso a los animales y humanos, donde normalmente residen y subsisten. De esta manera, la bacteria asegura su supervivencia e incrementa su posibilidad de transmitirse. Cuando produce infección asintomática o enfermedad leve, en vez de la muerte del huésped, el microorganismo que normalmente vive en las personas aumenta la posibilidad de transmitirse de una persona a otra.

Algunas bacterias que comúnmente causan enfermedad en humanos habitan sobre todo en animales e infectan a los humanos de manera incidental. Por ejemplo, especies de *Salmonella* y *Campylobacter* típicamente infectan animales y se transmiten al ser humano en los productos alimentarios. Otras bacterias producen infección accidental en humanos, un error del ciclo biológico normal del microorganismo; son microorganismos no adaptados a los humanos y la enfermedad que producen puede ser grave. Por ejemplo, la *Yersinia pestis* (que causa peste) muestra un ciclo biológico bien establecido en roedores y pulgas de éstos, y la transmisión por pulgas a los humanos es inesperada; el *Bacillus anthracis* (que causa ántrax) vive en el ambiente, a veces infecta animales y se transmite al ser humano por productos como pelos desprendidos de animales infectados. Las especies *Clostridium* son ubicuas en el ambiente y se transmiten a humanos por ingestión (p. ej., el *C. perfringens* en la gastroenteritis y *C. botulinum* [botulismo]) o cuando se contaminan heridas por tierra del suelo (p. ej., el *C. perfringens* [que causa la gangrena gaseosa] y el *C. tetani* [que produce tétanos]).

Las manifestaciones clínicas de las enfermedades (p. ej., diarrea, tos, secreción genital) producidas por los microorganismos, con frecuencia promueven la transmisión de estos agentes. Ejemplos de síndromes clínicos y la manera de incrementar la transmisión de la bacteria causante son los siguientes: *Vibrio cholerae* puede causar diarrea intensa que a veces contamina el agua salada o dulce; quienes beben esa agua o se alimentan con mariscos como ostras y cangrejos pueden infectarse; la ingestión de agua o mariscos contaminados a veces produce infección y enfermedad. De

manera similar, la contaminación de alimentos con aguas negras que contienen *E. coli* puede causar diarrea y transmitir la bacteria. El *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculosis) sólo infecta naturalmente al ser humano; produce enfermedad respiratoria con tos y emisión de secreciones respiratorias en aerosol, y como resultado las bacterias se transmiten de una persona a otra.

Muchas bacterias se transmiten de una persona a otra a través de las manos. Un portador de *S. aureus* en las narinas puede frotarse la nariz, recoger estafilococos en las manos y propagar la bacteria a otras partes del cuerpo o a otra persona, donde se produce infección. Muchos patógenos oportunistas que causan infecciones nosocomiales se transmiten de un paciente a otro a través de las manos del personal del hospital. Por tanto, el lavado de manos es un elemento importante en el control de infecciones.

La puerta de entrada más frecuente de las bacterias patógenas al cuerpo son los sitios donde las mucosas se unen a la piel: los conductos respiratorio (vías respiratorias superiores e inferiores), gastrointestinal (principalmente boca), genital y urinario. Las partes lesionadas de la mucosa y de la piel (p. ej., heridas, quemaduras y otras lesiones) también son sitios frecuentes de entrada. La piel y las mucosas normales son la primera línea de defensa contra la infección. Los patógenos deben superar estas barreras para causar enfermedad.

PROCESO INFECCIOSO

Una vez en el cuerpo, las bacterias deben unirse o adherirse a las células huésped, por lo general a las células epiteliales. Después de que las bacterias establecen un sitio primario de infección, se multiplican y propagan directamente a través de los tejidos o por el sistema linfático hacia el torrente sanguíneo. Esta infección (bacteriemia) puede ser transitoria o persistente. La bacteriemia permite a la bacteria difundirse en el cuerpo y alcanzar tejidos particularmente adecuados para su multiplicación.

La neumonía neumocócica es un ejemplo de proceso infeccioso. El *S. pneumoniae* se puede cultivar del material nasofaríngeo en 5 a 40% de las personas sanas. En ocasiones, el neumococo de la nasofaringe se aspira a los pulmones; la aspiración suele presentarse en personas debilitadas y en estados como el coma, cuando los reflejos normales de la tos y nauseoso disminuyen. La infección se desarrolla en los espacios aéreos terminales de los pulmones en individuos carentes de anticuerpos protectores contra el tipo de polisacárido capsular del neumococo. La multiplicación de los neumococos y la inflamación resultante producen neumonía. El neumococo penetra a los linfáticos del pulmón y se desplaza hacia la circulación sanguínea. Entre 10 y 20% de las personas infectadas con neumococo muestran bacteriemia al momento de confirmar el diagnóstico de neumonía. Una vez establecida la bacteriemia, el neumococo se puede propagar a sitios secundarios, donde causa infección (p. ej., líquido cefalorraquídeo, válvulas cardíacas, espacios articulares). Las principales complicaciones de la neumonía neumocócica son meningitis, endocarditis y artritis séptica.

En el cólera, el proceso infeccioso implica ingestión del *Vibrio cholerae*, atracción de la bacteria al epitelio in-

testinal por quimiotaxis, desplazamiento de la bacteria mediante un flagelo polar simple y penetración en la capa superficial de la mucosa intestinal. La adherencia del *V. cholerae* a la superficie de las células epiteliales está mediada por *pili* y tal vez por adhesinas. La producción de la toxina del cólera da lugar al flujo de cloro y agua a la luz del intestino, lo que provoca diarrea y desequilibrio electrolítico.

NATURALEZA CLONAL DE LAS BACTERIAS PATÓGENAS

Las bacterias son haploides (capítulo 7), lo que limita la interacción genética que puede cambiar sus cromosomas y alterar potencialmente su adaptación y supervivencia en nichos ambientales específicos. El mecanismo primario para el intercambio de información genética entre bacterias es la transferencia de elementos genéticos extracromosómicos móviles, plásmidos o fagos. Por lo general, los genes codificadores de muchos factores de la virulencia bacteriana se encuentran sobre plásmidos o se transportan por fagos. La transferencia de estos elementos genéticos móviles entre los miembros de una especie o, con menor frecuencia, entre especies diferentes, puede transferir factores de virulencia. A veces, los elementos genéticos forman parte de un DNA muy móvil (transposones; capítulo 7) y hay recombinación entre el DNA extracromosómico y el cromosoma (recombinación ilegítima o no homóloga; capítulo 7). Cuando acontece esta recombinación, los genes codificadores de los factores de virulencia pueden entrar a un cromosoma.

Un resultado importante de la conservación de genes cromosómicos en las bacterias es que los microorganismos son clonales, para la mayor parte de los patógenos sólo hay uno o pocos tipos clonales propagándose en el mundo durante un determinado periodo. Por ejemplo, el serogrupo A de la meningitis meningocócica epidémica aparece en Asia, Medio Oriente y África, y en ocasiones se propaga al norte de Europa y América. En algunas ocasiones, se observa que en el transcurso de un periodo de varios decenios aparecen tipos clonales únicos del serogrupo A de la *Neisseria meningitidis* en una región geográfica y subsecuentemente se propagan a otras con la epidemia resultante. Existen muchos tipos de *H. influenzae*, pero sólo el tipo clonal de *H. influenzae* tipo b se relaciona con la enfermedad. Hay dos tipos clonales de la *Bordetella pertussis*, ambos involucrados con enfermedad. De manera similar, la *Salmonella typhi* (fiebre tifoidea) aislada de los pacientes es de dos tipos clonales.

REGULACIÓN DE LOS FACTORES DE LA VIRULENCIA BACTERIANA

Las bacterias patógenas (y otros patógenos) se han adaptado a los estados saprofítico o de vida libre, posibles ambientes fuera del cuerpo, y al huésped humano. En el proceso de adaptación, los patógenos ahorran necesidades y productos metabólicos. Desarrollaron sistemas complejos de transducción de señales para regular los genes importantes para

la virulencia. Con frecuencia, las señales ambientales controlan la expresión de genes de virulencia. Las señales comunes incluyen temperatura, disponibilidad de hierro, osmolalidad, fase de crecimiento, pH e iones específicos (p. ej., Ca^{2+}) o factores nutrientes. En los siguientes párrafos se presentan algunos ejemplos.

El gen para la toxina diftérica del *Corynebacterium diphtheriae* se encuentra en el genoma de bacteriófagos temperados. Sólo las cepas bacterianas lisogenizadas por los fagos producen la toxina. La producción de ésta aumenta cuando la *C. diphtheriae* crece en un medio con poco hierro.

La expresión de los genes de la virulencia de la *Bordetella pertussis* aumenta cuando la bacteria crece a 37 °C y cesa cuando crece a temperaturas menores o en presencia de altas concentraciones de sulfato de magnesio o ácido nicotínico.

Los factores de la virulencia del *Vibrio cholerae* se regulan a múltiples niveles y por muchos factores ambientales. La expresión de la toxina del cólera es mayor a pH 6.0 que a pH 8.5 y a 30 °C que a 37 °C. La osmolalidad y la composición de los aminoácidos también son importantes. De manera similar, se regulan hasta otros 20 genes del *V. cholerae*.

Los yops son una serie de plásmidos que codifican para proteínas de virulencia de la yersinia que funcionan como antifagocíticos. La expresión máxima de los yops tiene lugar a 37 °C sin calcio; con calcio, la producción de yops incluso es mayor que a 25 °C. Por tanto, la producción de factores de virulencia antifagocíticos es mayor a las temperaturas corporales de animales y humanos que a la temperatura ambiente de las pulgas de roedores, donde los factores antifagocíticos no son importantes para la bacteria. La regulación de otros factores de la virulencia en las especies *Yersinia* también puede sufrir la influencia de factores ambientales.

La motilidad de las bacterias les permite diseminarse y multiplicarse en nichos ambientales o en pacientes. La *Yersinia enterocolitica* y la *Listeria monocytogenes* son ubicuas en el ambiente donde la motilidad es importante para ellas. Presuntamente, la motilidad no es importante en la patogenia de la enfermedad causada por estas bacterias. La *Y. enterocolitica* está dotada de motilidad cuando crece a 25 °C, pero no cuando crece a 37 °C. De manera similar, la listeria tiene motilidad cuando crece a 25 °C y no la tiene, o es mínima, cuando crece a 37 °C.

FACTORES DE LA VIRULENCIA BACTERIANA

Muchos factores determinan la virulencia bacteriana, esto es, su capacidad para causar infección y enfermedad.

Factores de adherencia

Una vez que la bacteria entra al cuerpo del huésped, debe adherirse a las células de la superficie de un tejido; si no se adhiere, será arrastrada por el moco y otros líquidos que bañan la superficie del tejido. La adherencia, sólo un paso del proceso infeccioso, va seguida del desarrollo de microcolonias y los pasos subsecuentes en la patogenia de la infección.

En el proceso de la adherencia, las interacciones entre bacterias y células de la superficie de los tejidos son com-

plejas. Varios factores desempeñan funciones importantes; la hidrofobicidad de la superficie y la carga eléctrica neta de dicha superficie; las moléculas de adhesión situadas en la bacteria (ligandos) y la interacción de éstas con las células receptoras del huésped. Por lo general, las bacterias y células del huésped tienen carga eléctrica negativa neta en la superficie y, por tanto, son fuerzas electrostáticas que se repelen. Estas fuerzas pueden ser superadas por interacciones hidrofóbicas y otras más específicas entre bacterias y células del huésped. En general, cuanto más hidrofóbica sea la superficie de la célula bacteriana, mayor será la adherencia a la célula huésped. Diferentes cepas de bacterias dentro de una especie pueden variar ampliamente en las propiedades hidrofóbicas de su superficie y en su capacidad para adherirse a las células huésped.

Las bacterias también tienen moléculas específicas en la superficie que interactúan con las células huésped. Muchas bacterias tienen *pili*, apéndices parecidos a cabellos que se extienden desde la superficie celular bacteriana y ayudan a mediar la adherencia de la bacteria a la superficie de la célula huésped. Por ejemplo, algunas cepas de la *E. coli* tienen *pili* de tipo I que se adhieren a los receptores de las células epiteliales que contienen D-manosa; la adherencia se puede bloquear *in vitro* al añadir D-manosa al medio. Los microorganismos de *E. coli* que causan infecciones del conducto urinario comúnmente no muestran adherencia mediada por D-manosa, pero tienen *pili*-P que se unen a una porción del antígeno P del grupo sanguíneo; la estructura mínima para el reconocimiento es un disacárido α -D-galactopiranosil-(1-4)- β -D-galactopiranosido (adhesión mediante enlace GAL-GAL). La *E. coli* que causa enfermedades diarreicas (capítulo 16) muestran adherencia mediada por *pili* a las células del epitelio intestinal, aunque los *pili* y los mecanismos moleculares específicos de la adherencia parecen ser diferentes según la variedad de la *E. coli* causante de la diarrea.

Otros mecanismos específicos ligando-receptor han evolucionado para promover la adherencia de las bacterias a las células huésped ilustrando los diversos mecanismos empleados por las bacterias. Los estreptococos del grupo A (*Streptococcus pyogenes*; capítulo 15) también tienen apéndices pilosos denominados fimbrias, extendidos desde la superficie celular. Sobre las fimbrias se encuentran ácido lipoteicoico y proteínas F y M. El ácido lipoteicoico y la proteína F promueven la adherencia de los estreptococos a las células del epitelio bucal; esta adherencia es mediada por la fibronectina, que se desempeña como molécula receptora en la célula huésped. La proteína M actúa como molécula antifagocítica.

Los anticuerpos con acción contra los ligandos bacterianos específicos que promueven la adherencia (p. ej., *pili* y ácido lipoteicoico) pueden bloquear la adherencia a las células huésped y proteger al huésped contra la infección.

Invasión de células y tejidos huéspedes

Para muchas bacterias causantes de enfermedad, la invasión del epitelio del huésped es un proceso central de la infección. Algunas (p. ej., especies de *Salmonella*) invaden los tejidos a través de las uniones entre las células epitelia-

les; otras (p. ej., especies de *Yersinia*, la *N. gonorrhoeae*, la *Chlamydia trachomatis*), invaden tipos específicos de células epiteliales del huésped y subsecuentemente pueden penetrar al tejido. Una vez dentro de la célula huésped, la bacteria puede permanecer encerrada en una vacuola formada por la membrana de la célula huésped, o la membrana vacuolar puede disolverse y la bacteria se dispersa en el citoplasma. Algunas bacterias (p. ej., especies de *Shigella*) se multiplican dentro de las células del huésped, otras no.

"Invasión" es el término comúnmente empleado para describir la entrada de las bacterias a las células huésped; implica una función activa para los microorganismos y una función pasiva para las células huésped. En muchas infecciones, las bacterias producen factores de virulencia que influyen en las células huésped, causando la fagocitosis de la bacteria. Las células huésped desempeñan una función muy activa en el proceso.

Por lo general, la producción de toxinas y otras propiedades de la virulencia son independientes de la capacidad de las bacterias para invadir células y tejidos. Por ejemplo, la *Corynebacterium diphtheriae* puede invadir el epitelio de la nasofaringe y causar úlcera faríngea sintomática, incluso cuando las cepas del *C. diphtheriae* no son toxigénicas.

Los estudios *in vitro* con cultivo de células ayudaron a caracterizar los mecanismos de invasión de algunos patógenos; sin embargo, los modelos *in vitro* no suministran necesariamente un cuadro completo del proceso invasor. El conocimiento completo de este proceso, como ocurre en las infecciones adquiridas naturalmente, requiere el estudio de mutantes bacterianos obtenidos por ingeniería genética y de su capacidad para infectar animales y humanos susceptibles. Por tanto, para comprender la invasión por bacterias de las células eucariotas se requiere cumplir los postulados de Koch, los originales y los moleculares. En los siguientes párrafos se presentan ejemplos de invasión de células huésped por bacterias como parte del proceso infeccioso.

Las especies de *Shigella* se adhieren a las células huésped *in vitro*. Comúnmente se emplean células HeLa; células indiferenciadas, no polarizadas, que derivan de un carcinoma cervical. La adherencia causa polimerización de la actina en el citoplasma de la célula HeLa, y esto induce la formación de pseudópodos por las células HeLa y la fagocitosis de la bacteria. La adherencia y la invasión son mediadas, en parte, por productos de un gen localizado sobre un gran plásmido común a muchas shigelas. Al menos tres proteínas (antígenos de invasión del plásmido, IpaA, IpaB, IpaC e IpaD, contribuyen al proceso. Una vez dentro de las células HeLa, las shigelas pueden liberarse de la vesícula fagocítica hacia el citoplasma, donde se multiplican. La polimerización de la actina impulsa las shigelas dentro de la célula HeLa y de una célula a otra. La patogenia de la adherencia y la invasión por shigela parecen ser algo diferente *in vivo* y menos bien comprendidas a nivel molecular. Las shigelas se adhieren a integrinas en la superficie de las células M de las placas de Peyer y no a células absorptivas polarizadas de la mucosa. Por lo regular, las células M seleccionan antígenos y los presentan a los macrófagos en la submucosa. Las células M fagocitan las shigelas, pasan a través de estas células y así evaden la destrucción por los macrófagos. Se cree que las shigelas se adhieren a integrinas sobre la cara basal de las células mucosas cercanas, esto

va seguido por la ingestión al interior de las células mucosas y por la propagación a las células adyacentes de una manera similar al modelo de invasión de células *in vitro*.

A partir de estudios que utilizan células *in vitro*, parece que el proceso invasión-adherencia de la *Y. enterocolitica* es similar al de *Shigella*. La yersinia se adhiere a la membrana de la célula huésped y estimula un proceso de fagocitosis. A continuación, las bacterias son ingeridas por la célula huésped con formación de una vacuola; después, la membrana de la vacuola se disuelve. La invasión es mayor cuando las bacterias crecen a 22 °C que a 37 °C. Una vez que la yersinia se encuentra dentro de la célula, la membrana vacuolar se disuelve y la bacteria se libera en el citoplasma. Se estima que *in vivo* la yersinia se adhiere e invade las células M de las placas de Peyer y no a las células mucosas absorbivas polarizadas, muy parecido a lo que acontece con la shigela.

Con los alimentos se ingiere la *L. monocytogenes* del ambiente. La bacteria presuntamente se adhiere a la mucosa intestinal a la cual invade, alcanza la circulación sanguínea y se disemina. La patogenia de este proceso se ha estudiado *in vitro*. La *L. monocytogenes* se adhiere e invade con facilidad a los macrófagos y a las células intestinales indiferen-

ciadas en cultivo. Las listerias inducen su fagocitosis por las células huésped. Al parecer, dos proteínas, las **internas**, desempeñan una función primaria en este proceso. El proceso de ingestión y movimientos dentro de la célula, y entre ellas, requiere la polimerización de la actina para impulsar a la bacteria, igual que shigela.

La *Legionella pneumophila* infecta los macrófagos pulmonares y causa neumonía. La adherencia de las legionelas a los macrófagos induce la formación de un pseudópodo delgado y largo que se enrolla alrededor de la bacteria para formar una vesícula (**fagocitosis por enrollamiento**). La vesícula permanece intacta, la fusión del fagolisosoma se inhibe y la bacteria se multiplica dentro de la vesícula.

La *Neisseria gonorrhoeae* emplea *pili* como adhesinas primarias y **proteínas asociadas con opacidad (Opa)** como adhesinas secundarias para fijarse a las células del huésped. Ciertas proteínas Opa median la adherencia a células polimorfonucleares. Algunos gonococos sobreviven después de ser fagocitados por estas células. *Pili* y Opa juntos incrementan la invasión de las células cultivadas *in vitro*. En los cultivos de trompa uterina (de Falopio), los gonococos se adhieren a las microvellosidades de las células no ciliadas, y

Cuadro 9-2. Características de las exotoxinas y endotoxinas (lipopolisacáridos)

Exotoxinas	Endotoxinas
Excretadas por células vivientes; mayor concentración en el medio líquido	Parte integral de la pared celular de bacterias gramnegativas. Liberadas al morir la bacteria, y en parte durante el crecimiento. A veces no necesitan liberarse para mostrar su actividad biológica
Producidas por bacterias grampositivas y gramnegativas	Sólo se encuentran en bacterias gramnegativas
Polipéptidos con PM de 10 000 a 900 000	Lipopolisacáridos complejos. La porción lipídica A tal vez confiere la toxicidad
Relativamente inestables; toxicidad con frecuencia eliminada rápidamente mediante calentamiento a temperaturas mayores de 60 °C	Relativamente estable; resiste el calor a temperaturas mayores de 60 °C durante horas sin perder su toxicidad
Altamente antigénicas; estimulan el aumento de títulos de la antitoxina. La antitoxina neutraliza la toxina	Débilmente inmunógena; los anticuerpos son antitoxina y protectores. La interrelación entre los títulos del anticuerpo y la protección de la enfermedad es menos clara que con las exotoxinas
Convertida en toxoide antigénico, no tóxico, mediante formol, ácido, calor, etc. Los toxoides se emplean para inmunizar (p. ej., toxoide tetánico)	No se convierten en toxoides
Altamente tóxica; mortal para animales en cantidades de microgramos o menores	Moderadamente tóxicas; mortales para animales en cantidades de 10 a 100 µg
Suele unirse a receptores específicos sobre las células	No se encuentran receptores específicos sobre las células
Por lo general no produce fiebre en el huésped	En general, producen fiebre en el huésped por liberación de IL-1 y otros mediadores
Con frecuencia se controla por genes extracromosómicos (p. ej., plásmido)	Síntesis dirigida por genes cromosómicos

al parec
cocos se
cio sube

Toxina

En gene
en dos g
presenta

A. Exo

Muchas
exotoxin
de estas
en la his
sado por
dos de l
sin emb
militar
enferme
las enfer
portante
das toxo
para eli
subunida
adheren
da a la e
activada
de meca
toxinas.
en los ca

El
crecer so
heridas n
phtheria
estructur
ca y pue
ducción
crecimie
va la máx
una mole
nativa se
y B. reum
700) se u
facilita la
citoplasma
miento d
zante que
adenosin
la síntesis
cas norm

El
produce e
tamina la
anaeróbic
ralmente
vegetativ
na (PM
en dos pé
un puer

al parecer inducen su ingestión por estas células. Los gonococos se multiplican dentro de las células y emigran al espacio subepitelial mediante un mecanismo aún desconocido.

Toxinas

En general, las toxinas que producen las bacterias se clasifican en dos grupos: exotoxinas y endotoxinas. En el cuadro 9-2 se presentan las principales características de los dos grupos.

A. Exotoxinas

Muchas bacterias grampositivas y gramnegativas producen exotoxinas de considerable importancia médica. Algunas de estas toxinas han desempeñado importantes funciones en la historia de la humanidad. Por ejemplo, el tétanos causado por la toxina del *C. tetani* mató a más de 50 000 soldados de las fuerzas del Eje en la Segunda Guerra Mundial; sin embargo, las fuerzas aliadas vacunaron a su personal militar contra el tétanos y muy pocos fallecieron por esta enfermedad. Se han desarrollado vacunas para algunas de las enfermedades mediadas por exotoxina que aún son importantes en la prevención de éstas. Estas vacunas (llamadas **toxoides**) se elaboran a partir de exotoxinas modificadas para eliminar su toxicidad. Muchas exotoxinas constan de subunidades A y B: la subunidad B generalmente media la adherencia del complejo toxina a una célula huésped y ayuda a la exotoxina a entrar a ella. La subunidad A confiere la actividad tóxica. Enseguida se presentan algunos ejemplos de mecanismos patógenos que se relacionan con las exotoxinas. Otras toxinas de bacterias específicas se analizan en los capítulos relacionados con esas bacterias.

El *C. diphteriae* es un bacilo grampositivo que puede crecer sobre la mucosa de las vías respiratorias superiores o en heridas menores de la piel (capítulo 13). Las cepas del *C. diphteriae* portadoras de un bacteriófago temperado con el gen estructural para la toxina son tóxicas, producen **toxina diftérica** y pueden causar **difteria**. Muchos factores regulan la producción de la toxina; cuando el factor limitante de la tasa de crecimiento es la disponibilidad de hierro inorgánico se observa la máxima producción de toxinas. La toxina se secreta como una molécula de polipéptido simple (PM 62 000). Esta toxina nativa se descompone enzimáticamente en dos fragmentos. A y B, reunidos por un puente disulfuro. El fragmento B (PM 40 700) se une a receptores específicos de la célula huésped y facilita la entrada del fragmento A (PM 21 150) al interior del citoplasma. El fragmento A inhibe el factor EF-2 de alargamiento de la cadena de péptido mediante una reacción catalizante que produce nicotinamida libre, además de un complejo adenosina-difosfato-ribosa-EF-2 inactivo. La interrupción de la síntesis de proteínas altera las funciones celulares fisiológicas normales. La toxina diftérica es muy potente.

El *C. tetani* es un bacilo anaerobio grampositivo que produce tétanos (capítulo 12). El *C. tetani* del ambiente contamina las heridas, y las esporas germinan en el ambiente anaeróbico de los tejidos desvitalizados. La infección generalmente es menor y no es clínicamente evidente. Las formas vegetativas de *C. tetani* producen la toxina **tetanospasmina** (PM 150 000), que es digerida por una proteasa bacteriana en dos péptidos (PM 50 000 y PM 100 000) unidos mediante un puente disulfuro. Al principio, la toxina inicialmente se

fija a los receptores localizados en las membranas presinápticas de las neuronas motoras; posteriormente migra a través del sistema de transporte axónico retrógrado a los cuerpos celulares de estas neuronas hacia la médula espinal y tallo cerebral. La toxina se difunde desde este último hacia las terminales de las células inhibitorias, incluyendo tanto a las interneuronas glicinérgicas como a las neuronas secretoras de ácido y aminobutírico. La toxina degradada a la sinaptobrevina, una proteína requerida como "anclaje" para las vesículas que contienen neurotransmisores en la membrana presináptica. Como consecuencia, la liberación de glicina y ácido γ aminobutírico (neurotransmisores inhibitorios) se bloquea y las neuronas motoras nunca se inhiben; el resultado es una parálisis espástica. Cantidades muy pequeñas de toxina pueden ser mortales para los humanos. En personas con un sistema inmunitario normal, el tétanos puede prevenirse mediante inmunización con toxoide tetánico.

El *C. botulinum*, que causa el botulismo, se encuentra en el suelo o en el agua y puede proliferar en los alimentos (enlatados, empaquetados al vacío, etc.): en condiciones anaeróbicas produce una toxina muy potente (la más potente que se conoce). Es termolábil y se destruye con suficiente calor. Existen diferentes tipos serológicos de toxinas. Los tipos A, B y E se relacionan más con la enfermedad humana. La toxina es muy parecida a la toxina tetánica: es una proteína con PM 150 000 digerida a dos proteínas, una de PM 100 000 y otra 50 000, unidas entre sí mediante un puente disulfuro. La toxina botulínica se absorbe en el intestino y se adhiere a los receptores de las membranas presinápticas de las neuronas motoras del sistema nervioso periférico y nervios craneales. La proteólisis de las proteínas neuronales blanco, llevada a cabo por la cadena ligera de la toxina botulínica, inhibe la liberación de acetilcolina en la sinapsis; el resultado es una falta de contracción muscular y parálisis.

Las esporas del *C. perfringens* se introducen en heridas contaminadas con tierra del suelo o heces. Si hay tejido necrosado (ambiente anaeróbico), las esporas germinan y las células vegetativas pueden producir varias toxinas diferentes. Muchas son necrosantes y hemolíticas, lo cual, aunado a la distensión del tejido por los gases formados a partir de carbohidratos y al riego sanguíneo deficiente, favorece la propagación de **gangrena gaseosa**. La toxina α del *C. perfringens* es una **lecitinasa** que daña las membranas celulares desdoblado la lecitina en fosforilcolina y diglicérido. La toxina también tiene efecto necrosante. Los clostridios también producen collagenasas y DNasas.

Algunas cepas del *S. aureus* que crecen sobre las mucosas (p. ej., en la vagina durante la menstruación) o en heridas elaboran la toxina-1 del síndrome de choque tóxico (TSST-1), que causa el síndrome de choque tóxico (capítulo 14). La enfermedad se caracteriza por choque, fiebre alta y erupción eritematosa difusa que después se descama; también afecta muchos otros órganos sistémicos. La TSST-1 es un superantígeno que estimula a los linfocitos para producir grandes cantidades de IL-1 y TNF (capítulo 8). La principal manifestación clínica de la enfermedad parece deberse a los efectos de las citocinas. La TSST-1 puede actuar de manera sinérgica con concentraciones bajas de lipopolisacárido para producir el efecto tóxico. Muchos de los efectos sistémicos de la TSST-1 son similares a la intoxicación causada por el lipopolisacárido (véase más adelante).

Algunas cepas de estreptococos β hemolíticos del grupo A producen **exotoxina pirógena A** similar a, o tal vez la misma toxina eritrógena estreptocócica que produce la fiebre escarlata. Una infección del tejido blando, rápidamente progresiva, causada por el estreptococo productor de exotoxina pirógena A, muestra muchas manifestaciones clínicas similares a las del síndrome de choque tóxico por estafilococo. La exotoxina pirógena A también es un superantígeno que actúa de una manera similar a la TSST-1.

B. Exotoxinas relacionadas con enfermedades diarreicas y envenenamiento por alimentos

Las exotoxinas relacionadas con enfermedades diarreicas frecuentemente se denominan enterotoxinas (cuadro 48-3). Más adelante se estudian las características de algunas enterotoxinas importantes.

El *V. cholerae* puede producir epidemias de diarrea (cólera) en muchas partes del mundo (capítulo 18) y es una enfermedad de importancia histórica y actual causada por toxinas. Luego de entrar al huésped por la ingestión de alimentos o bebidas contaminadas, el *V. cholerae* alcanza la mucosa intestinal y se adhiere a las microvellosidades del borde en cepillo de las células epiteliales del intestino. El *V. cholerae*, casi siempre del serotipo O1 (y O139), puede producir una enterotoxina con PM de 84 000. La toxina consiste en dos subunidades —A, que se divide en dos péptidos, A₁ y A₂, enlazados mediante un enlace disulfuro y B. La subunidad B consta de cinco péptidos idénticos y se unen rápidamente a las moléculas de los gangliosidos de membrana celular. La subunidad A entra a la membrana celular e incrementa la actividad de la enzima adenilato ciclasa y la concentración de cAMP. El efecto real es la secreción rápida de electrolitos en la luz del intestino delgado, con disminución de la absorción de sodio y cloro y pérdida de bicarbonato. Puede presentarse diarrea masiva potencialmente mortal (p. ej., 20 a 30 L/d) y desarrollarse acidosis. El efecto nocivo del cólera se debe a la pérdida de líquido y al desequilibrio acidobásico; por tanto, el tratamiento es el reemplazo de los electrolitos y líquidos perdidos.

Algunas cepas *S. aureus* producen enterotoxinas cuando proliferan en carne, productos lácteos u otros alimentos. En casos típicos, el alimento es de preparación reciente, pero no refrigerado de manera apropiada. Existen al menos seis tipos distintos de **enterotoxina estafilocócica**. Después de ingerir la toxina preformada se absorbe en el intestino, donde estimulan receptores nerviosos. Este estímulo se transmite al centro del vómito en el sistema nervioso central. En pocas horas se produce vómito, casi siempre en proyectil. La diarrea es menos frecuente. La intoxicación alimentaria por estafilococos es la variedad más común de envenenamiento por alimentos. Las enterotoxinas del *S. aureus* son superantígenos.

Algunas cepas de *Y. enterocolitica* (capítulo 20), *Vibrio parahaemolyticus* (capítulo 18), especies de *Aeromonas* (capítulo 18) y de otras bacterias también producen enterotoxinas, pero la función patógena de estas toxinas aún no se ha definido. En el capítulo 12 se estudia la enterotoxina producida por el *C. perfringens*.

C. Lipopolisacáridos de bacterias gramnegativas

Los lipopolisacáridos (LPS, endotoxinas) de las bacterias gramnegativas se derivan de la pared celular y con frecuen-

cia se liberan durante la lisis de la bacteria. Son sustancias termoestables con PM entre 3 000 y 5 000 (lipooligosacáridos, LOS) y varios millones (lipopolisacáridos, LPS), y pueden extraerse (p. ej., con fenol-agua). Tienen tres regiones principales (cuadro 9-3; figura 2-20).

Los efectos fisiopatológicos de los LPS son similares cualquiera que sea su origen bacteriano, excepto para las especies de *Bacteroides*, las cuales poseen una estructura diferente y son menos tóxicas (capítulo 11). En el torrente sanguíneo, los LPS se adhieren inicialmente a las proteínas circulantes, que a continuación interactúan con los receptores sobre macrófagos y monocitos, así como otras células del sistema reticuloendotelial. Se liberan IL-1, TNF y otras citocinas, y se activan las cascadas del complemento y de la coagulación. Clínica o experimentalmente se observa fiebre, leucopenia e hipoglucemia; hipotensión y choque, que provocan la perfusión deficiente de órganos esenciales (p. ej., cerebro, corazón, riñón); coagulación intravascular y muerte por disfunción múltiple de órganos.

La inyección de los LPS produce **fiebre** después de 60 a 90 min, tiempo necesario para que el cuerpo libere la IL-1. La inyección de la IL-1 produce fiebre antes de 30 min; la inyección repetida produce la misma respuesta febril cada vez, pero las inyecciones repetidas de los LPS causan una respuesta de fiebre que declina de manera sostenida debido a tolerancia, en parte producida por el bloqueo del sistema reticuloendotelial y en parte por anticuerpos IgM a los LPS.

La inyección de los LPS produce **leucopenia** inicial, igual que la bacteriemia con microorganismos gramnegativos. Más tarde aparece leucocitosis secundaria. La leucopenia inicial coincide con el inicio de fiebre por liberación de la IL-1. Los LPS aumentan la glucólisis en muchos tipos de células y pueden producir **hipoglucemia**.

Al principio de la bacteriemia por gramnegativos o después de la inyección de los LPS aparece **hipotensión**. Puede

Cuadro 9-3. Composición de lipopolisacáridos "endotoxinas" en las paredes celulares de las bacterias gramnegativas

Química	Nombre común
a) Combinaciones de oligosacáridos repetidos (p. ej., man-ha-gal) son determinantes hapéuticos de tipo específico (más notables en la pared celular)	a) Polisacárido O-específico. Induce inmunidad específica
b) (N-acetilglucosamina, glucosa, galactosa, heptosa.) Iguales en todas las bacterias gramnegativas	b) Polisacárido común del núcleo central
c) Esqueleto de grupos heptosa y fosfato alternos unidos a través de CDO (ácido 2-ceto-3-desoxioctónico) a lípidos. El lípido se une al peptidoglicano (por uniones glucósido) (figura 2-23)	c) Lípido A con CDO encargado de la toxicidad primaria

haber vasoconstricción arteriolar y venular extensa seguida por dilatación vascular periférica, incremento de la permeabilidad vascular, disminución del retorno venoso, descenso del gasto cardíaco, estancamiento en la microcirculación, vasoconstricción periférica, choque y riego sanguíneo deficiente a los órganos, con todas sus consecuencias. La coagulación intravascular diseminada también contribuye a estos cambios vasculares.

El LPS es uno de los muchos agentes diferentes que pueden activar la vía alterna de la cascada del complemento, desencadenando varias reacciones mediadas por el complemento (anafilatoxinas, respuesta quimiotáctica, daño a la membrana, etc.) y descenso de la concentración sérica de los componentes del complemento (C3, C5-9).

La coagulación intravascular diseminada (CID) es una complicación frecuente de la bacteriemia por gramnegativos y también puede aparecer en otras infecciones. El LPS activa el factor XII (factor Hageman), primer paso en el sistema intrínseco de coagulación y pone en marcha la cascada de la coagulación que culmina en la conversión del fibrinógeno en fibrina. Al mismo tiempo, el LPS puede activar el plasminógeno para convertirlo en plasmina (una enzima proteolítica), la cual ataca a la fibrina con formación de productos de la degradación de la fibrina. La disminución de la concentración de las plaquetas y del fibrinógeno, así como la detección de productos de la degradación de la fibrina son evidencias de CID. A veces, la heparina puede evitar las lesiones relacionadas con la CID.

El LPS produce la adherencia de las plaquetas al endotelio vascular y la oclusión de los vasos sanguíneos de pequeño calibre para provocar necrosis isquémica o hemorrágica en varios órganos.

Las concentraciones de endotoxina se pueden investigar mediante la prueba de *limulus*: un lisado de amebocitos del cangrejo herradura (*Limulus*) forma gel o se coagula con 0.0001 µg/mL de endotoxina.

D. Peptidoglucano de las bacterias grampositivas

Los peptidoglucanos de las bacterias grampositivas son producidos por macromoléculas con puentes cruzados que rodean las células bacterianas (capítulo 2 y figura 2-17). En las infecciones causadas por bacterias grampositivas que no contienen LPS también pueden ocurrir cambios vasculares que conducen a choque. Las bacterias grampositivas poseen una cantidad considerablemente mayor de peptidoglucanos vinculados con la pared celular en comparación con bacterias gramnegativas. Los peptidoglucanos liberados durante la infección pueden producir muchas de las mismas actividades biológicas de los LPS, aunque el peptidoglucano es invariablemente mucho menos potente que el LPS.

Enzimas

Muchas especies de bacterias producen enzimas no tóxicas intrínsecamente, pero que desempeñan funciones importantes en el proceso infeccioso. Algunas de estas enzimas se estudian posteriormente.

A. Enzimas destructoras de tejidos

Muchas bacterias producen enzimas capaces de destruir los tejidos. Las enzimas mejor caracterizadas proceden del *C.*

perfringens (capítulo 12), del *S. aureus* (capítulo 14), de los estreptococos del grupo A (capítulo 15) y en menor extensión de las bacterias anaeróbicas (capítulo 22). La función de estas enzimas en la patogenia de las infecciones parece ser evidente, pero es difícil demostrarlo, sobre todo en el caso de enzimas individuales. Por ejemplo, los anticuerpos contra enzimas estreptocócicas destructoras de tejidos no modifican las características de la enfermedad estreptocócica.

Además de la **lecitinasa**, el *C. perfringens* produce la enzima proteolítica **colagenasa**, que degrada la colágena, principal proteína del tejido fibroso conjuntivo y promueve la propagación de infección en los tejidos.

El *S. aureus* produce **coagulasa**, la cual al actuar conjuntamente con factores séricos coagula el plasma. La coagulasa contribuye a formar paredes de fibrina alrededor de lesiones estafilocócicas y así ayuda a la persistencia de éstas en los tejidos. La coagulasa también deposita fibrina sobre la superficie de estafilococos individuales y de ese modo los protege de la fagocitosis o de la destrucción dentro de las células fagocíticas.

Las **hialuronidasas** son enzimas que hidrolizan al ácido hialurónico, un elemento de la sustancia fundamental del tejido conjuntivo. Se producen en muchas bacterias (p. ej., estafilococos, estreptococos y anaerobios) y ayudan a su propagación a través de los tejidos.

Muchos estreptococos hemolíticos producen **estreptocinasa (fibrinolisisina)**, sustancia que activa una enzima proteolítica del plasma. Después, esta enzima puede disolver el plasma coagulado y tal vez ayuda a la rápida propagación de estreptococos a través de los tejidos. La estreptocinasa manipulada genéticamente se emplea en el tratamiento del infarto agudo del miocardio para disolver coágulos de fibrina.

Muchas bacterias producen **citolisinas**, es decir, sustancias que disuelven eritrocitos (**hemolisinas**) o que destruyen las células tisulares o leucocitos (**leucocidinas**). Por ejemplo, estreptococos del grupo A producen **estreptolisina O**, mortal para los ratones y hemolítica para los eritrocitos de muchos animales. La estreptolisina O es oxígeno-lábil y, por tanto puede oxidarse e inactivarse, pero se reactiva con los agentes reductores. Es antigénica. Los mismos estreptococos también producen **estreptolisina S (sero-inducible)**, oxígeno-estable y no antigénica. Los clostridios producen varias hemolisinas, las cuales incluyen la **lecitinasa** ya descrita. Las hemolisinas se producen en casi todas las cepas del *S. aureus*; los estafilococos también producen **leucocidina**. La mayor parte de los bacilos gramnegativos aislados de sitios infectados producen hemolisina. Por ejemplo, las cepas de la *E. coli* que causan infección en vías urinarias, típicamente producen hemolisinas, en tanto que las cepas de la flora gastrointestinal normal pueden o no producir hemolisinas.

B. Proteasas IgA1

La inmunoglobulina A es el anticuerpo secretado en las superficies mucosas. Se presenta en dos variantes principales, IgA1 e IgA2, que difieren cerca del centro o bisagra, la región de las cadenas pesadas de las moléculas (capítulo 8). La IgA1 tiene una serie de aminoácidos en la región de la bisagra, pero está ausente en la IgA2; algunas bacterias causantes de enfermedad producen enzimas **proteasas de IgA1** que cortan las uniones específicas prolina-treonina o proli-

de 10^{-18} mol/L de Fe^{3+} . Esta baja concentración de hierro iónico libre se debe a las proteínas fijadoras de hierro y a las proteínas de transporte del huésped, transferrina en sangre y linfa, y lactoferrina en secreciones externas. La transferrina y la lactoferrina tienen constantes de afinidad altas para el Fe^{3+} y en condiciones de metabolismo férrico normal sólo se saturan parcialmente. La ferritina y la hemoglobina también se unen al hierro. Por tanto, el metabolismo férrico del huésped niega a las bacterias patógenas una fuente adecuada de hierro para su crecimiento.

Las bacterias han desarrollado varios métodos para obtener suficiente hierro para su metabolismo esencial. La mayor parte de las bacterias tiene un sistema de baja afinidad para asimilar hierro, el cual les permite usar las formas poliméricas del hierro a pesar de la poca solubilidad de los compuestos férricos. Algunas bacterias desarrollaron sistemas de gran afinidad para asimilar hierro. Parte de estos sistemas implican sideróforos, ligandos específicos pequeños (PM 500 a 1 000) para capturar el hierro férrico, que suministran hierro a las células bacterianas. Se han caracterizado muchas variedades de sideróforos, pero la mayor parte caen en dos categorías: catecoles (fenolatos), el mejor caracterizado es la enterobactina; e hidroxamatos, el mejor caracterizado es el ferrioximo. *E. coli* y algunas otras enterobacterias producen enterobactina, los hidroxamatos se encuentran comúnmente en los hongos. La producción de sideróforos es una respuesta genética a la concentración de hierro en el medio. Por ejemplo, la enterobactina sólo se produce en condiciones de bajas concentraciones de hierro. La función de los sideróforos es capturar hierro: la enterobactina puede retirar hierro de la transferrina. Una vez que los sideróforos capturan hierro se introducen a la célula por acción de receptores proteínicos específicos situados en la membrana externa, los cuales también se sintetizan en condiciones de escasez de hierro.

Al parecer algunas bacterias no tienen sideróforos. La *Y. pestis* puede utilizar el hierro de la hemina e iniciar la infección utilizando hierro de la hemina en el intestino de la pulga hematófaga. La *N. gonorrhoeae* elabora una serie de proteínas de la membrana externa reguladas por hierro, pero se desconoce el mecanismo mediante el cual estas proteínas capturan e internalizan hierro. Otras bacterias (p. ej., la *Legionella pneumophila*, especies de *Listeria*, de *Salmonella* y otras bacterias) pueden obtener hierro a partir de las reservas intracelulares de hierro del huésped.

La disponibilidad de hierro afecta la virulencia de los patógenos. Por ejemplo, la virulencia de la *N. meningitidis* para los ratones aumenta 1 000 veces o más cuando las bacterias crecen con limitación de hierro. Efectos similares del hierro sobre la virulencia se pueden demostrar en otras especies de bacterias. Algunos plásmidos con genes para virulencia también codifican sistemas secuestradores de hierro.

Función de las biopapas bacterianas

Una biopapa es un agregado de bacterias interactivas unidas a una superficie sólida o entre sí e incrustadas en una matriz de exopolisacárido. Ésta es distinta del crecimiento planctónico o bacteriano de vida libre, en el que no ocurren interacciones de microorganismos. Las biopapas forman un revestimiento viscoso en las superficies sólidas y aparecen

en la naturaleza. Es posible que sólo intervenga una sola especie de bacterias, o bien, se podría coagregar más de una especie para formar una biopapa. En ocasiones participan los hongos, incluso las levaduras.

Las biopapas son importantes en las infecciones humanas que son persistentes y difíciles de tratar. Algunos ejemplos son las infecciones por *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* de los catéteres venosos centrales, infecciones de los ojos, como las que ocurren con lentes de contacto y lentes intraoculares, en la placa dental y con infecciones de vías aéreas por *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con fibrosis quística. Hay muchos otros ejemplos.

El paso inicial en la formación de la biopapa es la colonización de la superficie. Las bacterias podrían usar flagelos para moverse en una superficie e iniciar la colonización. Algunas bacterias podrían usar *pili* para agruparse mientras que otras se basan en la división celular para iniciar la formación de la colonia. Las bacterias secretan en forma continua concentraciones bajas de moléculas llamadas señales sensibles al quórum (p. ej., señales de lactona de acilhomoserina). A medida que crece el número de bacterias, aumenta las concentraciones de estas señales. Cuando se alcanza un umbral, las bacterias responden y cambian su comportamiento al cambiar la activación de genes. Es posible que participen muchos genes, y esto varía de una especie de bacterias a otra. Se produce el polisacárido extracelular; *P. aeruginosa* produce alginate. Se podrían activar genes que afecten las vías metabólicas y la producción de factores de virulencia. Las bacterias introducidas en la matriz tienen a tener metabolismo reducido.

Las bacterias en la matriz de exopolisacárido podrían estar protegidas de los mecanismos inmunes del huésped. La matriz también presenta una barrera de difusión para algunos antimicrobianos, en tanto que otros podrían unirse a ésta. Algunas bacterias dentro de la biopapa muestran resistencia marcada a los antimicrobianos en contraste con la misma cepa de bacterias de vida libre en caldo de cultivo, lo que ayuda a explicar por qué es tan difícil tratar infecciones relacionadas con biopapas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Un hombre de 27 años de edad fue sometido a rino-plastia. Se le colocó un tapón nasal para controlar la hemorragia. Hace más o menos unas 4 h manifestó jaqueca, dolores musculares y cólicos abdominales con diarrea. Luego, presentó exantema eritematoso (parecido a eritema solar) en gran parte de su cuerpo, incluso las palmas de las manos y las plantas de los pies. Su tensión arterial es de 80/50 mm Hg. El tapón nasal permanece en su lugar. Sus análisis de enzimas hepáticas son elevados, y hay evidencia de insuficiencia renal moderada. ¿Cuál de las siguientes sustancias es probable que cause la enfermedad del paciente?
 - Lipopolisacárido
 - Peptidoglucano
 - Una toxina que es un superantígeno
 - Una toxina que tiene subunidades A y B
 - Lecitinasa (toxina alfa)
- El organismo con más probabilidades de ser el causante de la enfermedad del paciente (pregunta 1) es:

- A. *Escherichia coli*
 B. *Corynebacterium diphtheriae*
 C. *Clostridium perfringens*
 D. *Neisseria meningitidis*
 E. *Staphylococcus aureus*
3. ¿Cuál de las siguientes afecciones tiene más probabilidades de estar relacionada con la formación de una biocapa bacteriana?
 A. Colonización de las vías aéreas en un paciente con fibrosis quística con una cepa mucóide (que produce alginate) de *Pseudomonas aeruginosa*
 B. Infección de vías urinarias con *Escherichia coli*
 C. Meningitis con *Neisseria meningitidis*
 D. Tétanos
 E. Impétigo causado por *Staphylococcus aureus*
4. Una muchacha de Bangladesh de 15 años de edad manifiesta diarrea acuosa grave. Las heces tienen apariencia de "agua con arroz". Son voluminosas: más de 1 L en los últimos 90 min. La paciente no tiene fiebre y parece normal excepto por los efectos de pérdida de líquido y electrólitos. La causa más probable de su enfermedad es:
 A. Enterotoxina de *Clostridium difficile*
 B. Una toxina con subunidades A y B
 C. *Shigella dysenteriae* tipo 1 que produce toxina de Shiga
 D. *Escherichia coli* enterotoxigénica que produce toxinas termolábiles y termoestables
 E. Enterotoxina F estafilocócica
5. Lo más importante que se puede hacer para tratar a la paciente (pregunta 4) es:
 A. Suministrarle ciprofloxacina
 B. Aplicarle una vacuna de toxoide
 C. Suministrarle la antitoxina apropiada
 D. Tratarla con sustitución de líquidos y electrólitos
 E. Llevar a cabo un cultivo de las heces de la paciente para establecer el diagnóstico correcto, luego tratar de manera específica
6. El primer microorganismo en satisfacer los postulados de Koch (a finales del siglo XIX) fue:
 A. *Treponema pallidum*
 B. *Stenotrophomonas maltophilia*
 C. *Mycobacterium leprae*
 D. *Bacillus anthracis*
 E. *Neisseria gonorrhoeae*
7. Un hombre de 55 años de edad manifiesta pérdida de peso creciente y gradual, dolor abdominal, diarrea y artropatía. Durante la evaluación, se lleva a cabo una biopsia de intestino delgado. Después de proceder, el examen de la muestra en el microscopio revela inclusiones positivas a la reacción de PAS (de Schiff) en la pared intestinal. ¿Cuál de los siguientes análisis se podría llevar a cabo para confirmar el diagnóstico de la enfermedad de Whipple, causada por *Tropheryma whippelii*?
 A. Cultivo en medio de agar
 B. Amplificación de la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación de un segmento apropiado de DNA
 C. Cocultivo con *Escherichia coli*
 D. Hibridación *in situ*
 E. Análisis directo de anticuerpos fluorescentes
8. Una mujer de 22 años de edad que trabaja en un invernadero presenta una historia de fiebre y tos durante dos meses. En este periodo ha perdido 5 kg. La radiografía de tórax muestra infiltrados bilaterales de los lóbulos superiores con cavidades. En una cepa de su esputo se observan bacilos resistentes a la decoloración en ácido. El medio probable mediante el que la paciente adquirió la infección es:
 A. Actividad sexual
 B. Ingerir los microorganismos en su comida
 C. Asirse de pasamanos contaminados cuando toma el transporte público
 D. Manipulación del suelo de las macetas
 E. Respirar gotas de aerosol que contienen a los microorganismos
9. Una mujer de 23 años de edad tiene una historia de infecciones recurrentes de vías urinarias, además de por lo menos un episodio de pielonefritis. La tipificación de los grupos sanguíneos muestra el antígeno del grupo sanguíneo P. ¿Cuál de las siguientes bacterias es probable que sea la causa primaria de sus infecciones?
 A. *Escherichia coli* que produce toxina termoestable
 B. *Escherichia coli* con antígeno K1 (tipo capsular 1)
 C. *Escherichia coli* O139 (antígeno 139 de lipopolisacárido O)
 D. *Escherichia coli* con pili P (fimbrias)
 E. *Escherichia coli* O157:H7 (antígeno 157 de lipopolisacárido O; antígeno flagelar 7)
10. Durante una pandemia de una enfermedad bien caracterizada, un grupo de 175 pasajeros vuelan de Lima, Perú, a Los Ángeles. El almuerzo en el avión consistió en ensalada de cangrejo, que ingirieron dos tercios de los pasajeros. Después de aterrizar en Los Ángeles, muchos de los pasajeros fueron transferidos a otros vuelos con destinos en otras partes de California y otros estados del oeste. Dos de los pasajeros que permanecieron en Los Ángeles manifestaron diarrea acuosa grave. Se desconoce el estado de los demás pasajeros. La causa probable de diarrea en los dos pasajeros es:
 A. *Escherichia coli* O157:H7 (antígeno 157 de lipopolisacárido O; antígeno flagelar 7)
 B. *Vibrio cholerae* tipo O139 (antígeno 139 de lipopolisacárido O)
 C. *Shigella dysenteriae* tipo 1 O139 (antígeno 139 de lipopolisacárido O)
 D. *Campylobacter jejuni*
 E. *Entamoeba histolytica*

Respuestas: 1 = C; 2 = E; 3 = A; 4 = B; 5 = D; 6 = D; 7 = B; 8 = E; 9 = D; 10 = B

GLOSARIO

Adherencia (adhesión, fijación): proceso mediante el cual una bacteria se pega a la superficie de la célula huésped. Una vez que la bacteria penetra al cuerpo, la adherencia es el paso inicial más importante del proceso infeccioso. Los términos adherencia, adhesión y fijación con frecuencia se emplean como sinónimos.

Infección: multiplicación de un agente infeccioso dentro del cuerpo. Por lo general, la multiplicación de

bacterias de la flora normal del conducto gastrointestinal, piel, etc., no se considera infección: la multiplicación de bacterias patógenas (p. ej., especies de *Salmonella*)—aun si la persona no presenta síntomas—sí se considera infección.

Invasión: proceso mediante el cual bacterias, parásitos, animales, hongos y virus penetran a células o tejidos del huésped y se propagan en el cuerpo.

No patógeno: microorganismo que no causa enfermedad; puede ser parte de la flora normal.

Patogenicidad: capacidad de un agente infeccioso para causar enfermedad. (Véase también virulencia.)

Patógeno: microorganismo que puede causar enfermedad.

Patógeno oportunista: agente capaz de causar enfermedad sólo si la resistencia del huésped es deficiente (paciente "inmunodeficiente").

Portador: persona o animal con infección asintomática que puede transmitirla a otra persona o animal susceptible.

Toxigenicidad: capacidad de un microorganismo para producir toxinas que contribuyen al desarrollo de la enfermedad.

Virulencia: capacidad cuantificable de un agente para causar enfermedad. Los agentes virulentos causan enfermedad cuando se introducen al huésped aun en pequeñas cantidades. Virulencia implica invasión y toxigenicidad (véase antes).

REFERENCIAS

- Costerton JW *et al.*: Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science* 1999;284:1318.
- Falkow S: Molecular Koch's postulates applied to microbial pathogenicity. *Rev Infect Dis* 1988;10(Suppl 3):S27-4.
- Fredricks DN, Relman DA: Sequence-based identification of microbial pathogens: A reconsideration of Koch's postulates. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:18.

- Götz F: MicroReview: *Staphylococcus* and biofilms. *Mol Microbiol* 2002;43:1367.
- Relman DA, Falkow S: A molecular perspective of microbial pathogenicity. In: *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Salyers AA, Whitl DD: *Bacteria: Pathogenesis*. 2nd ed. American Society for Microbiology, 2002.

Quimioterapia antimicrobiana

Desde el siglo XVII se emplean fármacos para el tratamiento de enfermedades infecciosas (p. ej., quinina para el paludismo, emetina para la amebiasis); sin embargo, la quimioterapia como ciencia empezó en la primera década del siglo XX con la comprensión de los principios de toxicidad selectiva, las relaciones químicas específicas entre patógenos microbianos y fármacos, el desarrollo de resistencia a fármacos y la función de terapia combinada. Los experimentos dieron lugar a las arsénaminas para la sífilis, el primer régimen quimioterapéutico planificado.

La era actual de la quimioterapia antimicrobiana se inició en 1935, con el descubrimiento de las sulfonamidas. En 1940 se demostró que la penicilina, descubierta en 1929, podía ser una sustancia terapéutica eficaz. En los siguientes 25 años, la investigación de agentes quimioterapéuticos se centró principalmente alrededor de las sustancias de origen microbiano denominadas antibióticos. El aislamiento, la concentración, la purificación y la producción masiva de penicilina fueron seguidas por el desarrollo de la estreptomycinina, las tetraciclinas, el cloranfenicol y muchos otros agentes. Estas sustancias se aislaron originalmente de filtrados de medios en los cuales habían crecido los respectivos hongos. La modificación sintética de los fármacos antes descritos ha sido sobresaliente en la elaboración de nuevos agentes antimicrobianos.

En este capítulo se presenta un resumen de los antimicrobianos empleados comúnmente en el tratamiento médico de las infecciones bacterianas. La quimioterapia de virus, hongos y parásitos se estudia en los capítulos 30, 45 y 46, respectivamente. Otros comentarios acerca de las pruebas de susceptibilidad de las bacterias a los antimicrobianos se estudian en el capítulo 47.

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS FÁRMACOS ANTIMICROBIANOS

Los fármacos antimicrobianos actúan en una de varias formas: por toxicidad selectiva, inhibición de la síntesis y función de la membrana celular, inhibición de síntesis de proteínas, o bien, inhibición de síntesis de ácidos nucleicos.

TOXICIDAD SELECTIVA

Un antimicrobiano ideal muestra toxicidad selectiva. Este término indica que el fármaco es nocivo para un parásito sin dañar al huésped. La toxicidad selectiva casi siempre es relativa y no absoluta; esto significa que un fármaco, en concentración tolerada por el huésped, puede dañar un microorganismo infectante.

La toxicidad selectiva puede ser una función de algún receptor específico necesario para la adhesión del fármaco, pero a veces depende de la inhibición de eventos bioquímicos indispensables para el microorganismo, mas no para el huésped. Los mecanismos de acción de la mayor parte de los antimicrobianos se pueden clasificar bajo cuatro acápites:

- 1) Inhibición de la síntesis de la pared celular.
- 2) Inhibición de las funciones de la membrana celular.
- 3) Inhibición de la síntesis de las proteínas (o sea, inhibición de la traducción y de la transcripción del material genético).
- 4) Inhibición de la síntesis del ácido nucleico.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE PARED CELULAR

Las bacterias tienen una capa externa rígida, la pared celular. La célula mantiene la forma y el tamaño del microorganismo, que tiene una alta presión osmótica interna. La lesión de la pared celular (p. ej., por lisozimas) o la inhibición de su formación podría originar la lisis de la célula. En un ambiente hipertónico (p. ej., sacarosa al 20%) una pared celular dañada da lugar a la formación de bacterias esféricas, "protoplastos" en microorganismos grampositivos, o "esferoplastos" en microorganismos gramnegativos; estas formas están limitadas por la frágil membrana citoplásmica. Si dichos protoplastos o esferoplastos se colocan en un ambiente de tonicidad ordinaria captan líquido con rapidez, se hinchan y pueden estallar. Las muestras de pacientes que se tratan con antibióticos activos en la pared celular suelen mostrar bacterias hinchadas o deformes.

La pared celular contiene un polímero complejo químicamente distinto "mucopéptido" ("peptidoglucano") que

consta de polisacáridos y un polipéptido con múltiples enlaces cruzados. Los polisacáridos regularmente contienen aminoazúcares *N*-acetilglucosamina y ácido acetilmurámico. Este último sólo se encuentra en las bacterias. Los aminoazúcares se encuentran adheridos a cortas cadenas de péptidos. Los enlaces cruzados entre las cadenas del péptido (p. ej., a través de enlaces pentaglicina), resultantes de las reacciones de transpeptidación efectuadas por varias enzimas, confieren su rigidez final a la pared celular. La capa de peptidoglucano es mucho más gruesa en la pared celular de las bacterias grampositivas en comparación a las gramnegativas.

Todos los fármacos β lactámicos son inhibidores selectivos de la síntesis de la pared celular bacteriana y por tanto son activos contra las bacterias en crecimiento. Esta inhibición sólo es una de las diferentes actividades de estos fármacos, pero es la mejor entendida. En la acción del fármaco la etapa inicial consiste en su unión a receptores celulares (proteínas de unión a penicilinas; PBP). Existen de 3 a 6 PBP (PM 4 a 12×10^5), algunas de las cuales son enzimas de transpeptidación. Receptores diferentes muestran afinidad independiente para un fármaco, y cada uno puede mediar un efecto diferente. Por ejemplo, la unión de la penicilina a una PBP puede producir alargamiento anormal de la célula, en tanto que la unión a otra PBP puede conducir a un defecto en la periferia de la pared celular, con la lisis celular resultante. Las PBP se encuentran bajo control cromosómico y las mutaciones pueden alterar su número o su afinidad por los fármacos β lactámicos.

Cuando el fármaco β lactámico se adhiere a uno o más receptores inhibe la reacción de transpeptidación e interrumpe la síntesis del peptidoglucano. La siguiente etapa tal vez implica retirar o inactivar un inhibidor de enzimas autolíticas en la pared celular. Esto activa la enzima lítica y si el ambiente es isotónico produce lisis. En un ambiente notablemente hipertónico los microorganismos cambian a protoplastos o esferoplastos sólo cubiertos por la frágil membrana celular. La síntesis de proteínas y ácidos nucleicos puede continuar en estas células durante algún tiempo.

La inhibición por penicilinas y cefalosporinas de las enzimas de transpeptidación a veces se debe a la semejanza estructural de estos fármacos con la acil-D-alanil-D-alanina. Las reacciones de transpeptidación implican la pérdida de una D-alanina del pentapéptido.

La notable ausencia de toxicidad de los fármacos β lactámicos para las células de mamífero debe atribuirse a la ausencia, en células animales, de una pared celular de tipo bacteriano con su peptidoglucano. La diferencia de susceptibilidad entre las bacterias grampositivas y las gramnegativas a diferentes penicilinas o cefalosporinas depende probablemente de diferencias estructurales en su pared celular (p. ej., cantidad de peptidoglucano, presencia de receptores y lípidos, naturaleza de los enlaces cruzados, actividad de las enzimas autolíticas) las cuales determinan la penetración, el enlace y la actividad de estos fármacos.

La resistencia a las penicilinas puede ser determinada por la producción en el microorganismo de enzimas destructoras de la penicilina (β lactamasas). Las β lactamasas abren el anillo β lactámico de las penicilinas y las cefalosporinas y suprimen su actividad antimicrobiana. Se han descrito muchas β lactamasas para muchas especies de bacterias grampositivas y gramnegativas. Algunas β lactamasas son

codificadas por plásmidos (p. ej., la penicilinasasa del *Staphylococcus aureus*), en tanto que otras son codificadas por los cromosomas bacterianos (p. ej., muchas especies de bacterias gramnegativas). Más de 30 β lactamasas mediadas por plásmidos se producen constitutivamente y muestran una notable tendencia a transferirse de una especie de bacteria a otra (p. ej., la *Neisseria gonorrhoeae* productora de β lactamasas, el *Haemophilus influenzae*, y más recientemente los *Enterococcus*). Las β lactamasas codificadas cromosómicamente pueden producirse constitutivamente (p. ej., *Bacteroides*, *Acinetobacter*), o pueden ser inducibles (p. ej., enterobacter, citrobacter, pseudomonas).

Existe un grupo de β lactamasas que ocasionalmente se identifican en ciertas especies de bacilos gramnegativos, por lo general *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Estas enzimas se denominan β lactamasas de amplio espectro (ESBL, del inglés *extended-spectrum β lactamasas*), debido a que confieren a las bacterias que las contienen una capacidad adicional para hidrolizar los anillos β lactámicos de cefotaxima, ceftazidima o aztreonam.

La clasificación de las β lactamasas es compleja; se basa en propiedades genéticas y bioquímicas y en la afinidad de sustrato para un inhibidor de la β lactamasas (ácido clavulánico). El ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam son inhibidores de la β lactamasas con gran afinidad por ciertas β lactamasas a las cuales se unen irreversiblemente (p. ej., penicilinasasa del *Staphylococcus aureus*), pero no son hidrolizables por la β lactamasas. Estos inhibidores protegen simultáneamente de la destrucción a todas las penicilinas hidrolizables presentes (p. ej., ampicilina, amoxicilina y ticarcilina). Ciertas penicilinas (p. ej., cloxacilina) también muestran gran afinidad por las β lactamasas.

Existen otros dos mecanismos de resistencia de diferente tipo. Uno es la ausencia de algún receptor para la penicilina (penicilina unida a proteínas, PBP) que aparece como resultado de una mutación cromosómica; el otro se debe al fracaso del fármaco β lactámico para activar las enzimas autolíticas de la pared celular. Como resultado el microorganismo se inhibe pero no muere. Esta tolerancia se observa especialmente con los *Staphylococcus* y ciertos estreptococos.

Ejemplos de agentes que actúan por inhibición de la síntesis de pared celular son penicilinas, cefalosporinas, vancomicina y cicloserina. Algunos otros fármacos, que incluyen bacitracina, teicoplanina, vancomicina, ristocetina y novobiocina, inhiben las primeras etapas de la biosíntesis del peptidoglucano. Puesto que las etapas iniciales de la síntesis tienen lugar dentro de la membrana citoplásmica, estos fármacos deben penetrar a la membrana para ser eficaces.

INHIBICIÓN DE LAS FUNCIONES DE LA MEMBRANA CELULAR

El citoplasma de toda célula viviente está limitado por la membrana citoplásmica, que sirve como barrera de permeabilidad selectiva y efectúa funciones de transporte activo y, por tanto, controla la composición interna de la célula. Si la integridad funcional de la membrana citoplásmica se altera, las macromoléculas y los iones escapan de la célula y sobreviene daño celular o muerte. La membrana citoplásmica

mica de las bacterias y de los hongos posee una estructura diferente a la membrana de las células animales y es más fácil de alterar por ciertos agentes. Por consiguiente, es posible la quimioterapia selectiva.

Ejemplos de este mecanismo son las polimixinas, que actúan sobre las bacterias gramnegativas, y los polienos con acción sobre hongos. Los polienos requieren enlazarse a un esterol presente en la membrana celular del hongo pero ausente en la membrana celular de las bacterias. En sentido inverso, las polimixinas son inactivas contra hongos y los polienos inactivos contra las bacterias; un notable ejemplo de toxicidad selectiva.

Otros ejemplos de agentes que actúan por inhibición de la función de la membrana celular son anfotericina B, colistina e imidazoles y triazoles.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE LAS PROTEÍNAS

Se ha establecido que el cloranfenicol, las tetraciclinas, los aminoglucósidos, las eritromicinas y las lincomicinas pueden inhibir la síntesis de las proteínas en las bacterias. Aún no se comprende por completo el mecanismo de acción preciso de estos fármacos.

Las bacterias tienen ribosomas 70S, en tanto que las células de los mamíferos poseen ribosomas 80S. Las subunidades de cada tipo de ribosoma, su composición química y sus especificidades funcionales son lo bastante diferentes para explicar por qué los antimicrobianos pueden inhibir la síntesis de las proteínas en los ribosomas de las bacterias sin mostrar mayor efecto sobre los ribosomas de los mamíferos.

En la síntesis normal de las proteínas microbianas el mensaje del mRNA es "leído" simultáneamente por varios ribosomas extendidos a lo largo de la cadena del mRNA. A éstos se les denomina **polisomas**.

Ejemplos de fármacos que actúan al inhibir la síntesis de proteínas son eritromicinas, lincomicinas, tetraciclinas, aminoglucósidos y cloranfenicol.

Aminoglucósidos

El modo de acción de la estreptomina se ha estudiado de manera más intensiva que el de otros aminoglucósidos, pero es probable que todos actúen de una manera similar. La primera etapa es la unión del aminoglucósido a una proteína receptora específica (p12 en el caso de la estreptomina) sobre la subunidad 30S del ribosoma microbiano. Segunda, el aminoglucósido interrumpe la actividad normal del "complejo de inicio" de la formación del péptido (mRNA + formilmetionina + tRNA). Tercera, en la "región de reconocimiento" sobre el ribosoma el mensaje del mRNA se lee de manera errónea; en consecuencia, se introduce un aminoácido equivocado en el péptido y como resultado se produce una proteína no funcional. Cuarto, la unión del aminoglucósido rompe los polisomas y los separa en monosomas incapaces de sintetizar proteínas. Estas acciones tienen lugar de manera más o menos simultánea y el efecto total, en general, es un evento irreversible: la muerte de la bacteria.

La resistencia cromosómica de los microorganismos a aminoglucósidos depende principalmente de la falta de una proteína receptora específica sobre la subunidad 30S del ribosoma. La resistencia a los aminoglucósidos dependiente de plásmido se basa en la síntesis por el microorganismo de enzimas adenilantes, fosforilantes o acetilantes que destruyen los fármacos. Un tercer tipo de resistencia consiste en un "defecto de permeabilidad", un cambio en la membrana externa que reduce el transporte activo del aminoglucósido al interior de la célula, de modo que el fármaco no puede alcanzar el ribosoma. Con frecuencia este efecto es mediado por un plásmido.

Macrólidos, azálidos

Estos fármacos (eritromicinas, azitromicina y claritromicina) se unen a la subunidad 50S del ribosoma, el sitio de unión es un rRNA 23S. Pueden interferir con la formación de los complejos de inicio para la síntesis de las cadenas del péptido o con las reacciones de translocación del aminoácido. Algunas bacterias resistentes a macrólidos carecen del receptor apropiado sobre el ribosoma (por metilación del rRNA). Esto puede estar bajo el control de un plásmido o de cromosomas.

Lincomicinas

La clindamicina se une a la subunidad 50S del ribosoma microbiano y se asemeja a los macrólidos en cuanto al sitio de unión, actividad antibacteriana y modo de acción. Los mutantes cromosómicos desarrollan resistencia por carecer del sitio de unión apropiado sobre la subunidad 50S.

Tetraciclinas

Las tetraciclinas se unen a la subunidad 30S de los ribosomas microbianos. Inhiben la síntesis de las proteínas al impedir la adhesión del tRNA-aminoácido cargado. Por tanto, evitan la introducción de aminoácidos nuevos a la cadena naciente del péptido. La acción generalmente es inhibitoria y reversible al interrumpir la administración del fármaco. La resistencia a las tetraciclinas se debe a cambios en la permeabilidad de la envoltura de la célula microbiana. En las células susceptibles se concentra el fármaco proveniente del ambiente y no abandona con facilidad las células. En las células resistentes el fármaco no se transporta de manera activa al interior de la célula, o la abandona tan rápidamente que las concentraciones inhibitorias no se mantienen. Esto con frecuencia se controla por un plásmido. Las células de mamífero no concentran activamente a las tetraciclinas.

Cloranfenicol

El cloranfenicol se une a la subunidad 50S del ribosoma. Interfiere con la unión de nuevos aminoácidos sobre la cadena naciente del péptido, principalmente porque inhibe la

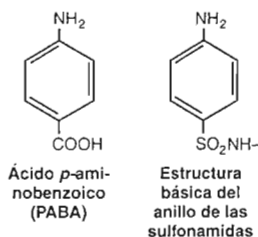
peptidiltransferasa. El cloranfenicol es bacteriostático y el crecimiento de los microorganismos se restablece cuando se interrumpe la administración del fármaco. Los microorganismos resistentes al cloranfenicol producen la enzima cloranfenicol acetiltransferasa que suprime la actividad del fármaco. La producción de esta enzima generalmente se encuentra bajo el control de un plásmido.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE LOS ÁCIDOS NUCLEICOS

Ejemplos de fármacos que actúan por inhibición de la síntesis de ácido nucleico son quinolonas, pirimetamina, rifampina, sulfonamidas, trimetoprim y trimetrexato. La rifampicina inhibe el crecimiento bacteriano al enlazar fuertemente a la RNA polimerasa dependiente del DNA de la bacteria. De esta manera inhibe la síntesis del RNA bacteriano. La resistencia a la rifampicina se debe a un cambio en la RNA polimerasa causado por una mutación cromosómica muy frecuente. El mecanismo de acción de la rifampicina sobre los virus es diferente. Bloquea una etapa tardía del ensamblaje de los posvirus.

Todas las quinolonas y fluoroquinolonas inhiben la síntesis del DNA microbiano al bloquear la DNA girasa.

Para muchos microorganismos el ácido *p*-aminobenzoico (PABA) es un metabolito esencial. El modo específico de acción del PABA implica la condensación dependiente de trifosfato de adenosina (ATP) de una pteridina con el PABA para producir ácido dihidropterico, que posteriormente se convierte en ácido fólico. El PABA también está implicado en la síntesis del ácido fólico, un precursor importante para la síntesis del ácido nucleico. Las sulfonamidas son análogos estructurales del PABA e inhiben la dihidropterato sintetasa.



Las sulfonamidas pueden entrar a la reacción en vez del PABA y competir por el centro activo de la enzima. Como consecuencia, se forman análogos no funcionales del ácido fólico, los cuales evitan un mayor crecimiento de la célula bacteriana. La acción inhibidora de sulfonamidas sobre el crecimiento de las bacterias puede ser contrarrestada por un exceso de PABA en el ambiente (inhibición competitiva). Las células animales no pueden sintetizar ácido fólico y dependen de fuentes exógenas. Algunas bacterias, igual que las células animales, no son inhibidas por las sulfonamidas. Sin embargo, muchas otras bacterias sintetizan áci-

do fólico según se menciona antes y, en consecuencia, son susceptibles a la acción de las sulfonamidas.

El trimetoprim (3,4,5-trimetoxibencil pirimidina) inhibe a la enzima ácido dihidrofólico reductasa con una eficiencia 50 000 veces mayor en las bacterias que en las células de los mamíferos. Esta enzima reduce el ácido dihidrofólico a tetrahidrofólico, una etapa en la secuencia que conduce a la síntesis de las purinas y en último término del DNA. Las sulfonamidas y el trimetoprim pueden usarse por separado para inhibir el crecimiento de las bacterias. Cuando se emplean juntas producen bloqueo secuencial, y como resultado su actividad aumenta notablemente (sinergia). Estas mezclas de sulfonamida (cinco partes) más trimetoprim (una parte) se emplean en el tratamiento de la neumonía por *Pneumocystis*, del paludismo, de la enteritis por *Shigella*, de las infecciones sistémicas por *Salmonella*, de las infecciones de las vías urinarias y muchas otras.

La pirimetamina también inhibe la dihidrofolato reductasa, pero es más activa contra la enzima en las células de mamífero y, por tanto, más tóxica que el trimetoprim. El tratamiento actual preferido para la toxoplasmosis y algunas otras infecciones por protozoarios es la pirimetamina más sulfonamida o clindamicina.

RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS ANTIMICROBIANOS

Los microorganismos poseen muchos mecanismos diferentes para desarrollar la resistencia a los fármacos.

- 1) Producen enzimas que destruyen al fármaco activo. Ejemplos: los estafilococos resistentes a la penicilina G producen una β lactamasa que destruye el fármaco. Los bacilos gramnegativos producen otras β lactamasas. Las bacterias gramnegativas resistentes a los aminoglucósidos (en virtud de un plásmido) producen enzimas amidantes, fosforilantes y acetilantes que destruyen el fármaco.
- 2) Cambian su permeabilidad al fármaco. Ejemplos: las tetraciclinas se acumulan en las bacterias susceptibles, pero no en las bacterias resistentes. La resistencia a la polimixina también se vincula con un cambio en la permeabilidad al fármaco. Los estreptococos poseen una barrera natural de permeabilidad a los aminoglucósidos, que puede superarse parcialmente al administrar simultáneamente un fármaco activo contra la pared celular, por ejemplo, una penicilina. La resistencia a la amikacina y a otros aminoglucósidos a veces depende de la ausencia de permeabilidad a estos fármacos, aparentemente por un cambio en la membrana interna que reduce el transporte activo al interior de la célula.
- 3) Alteran estructuralmente el "blanco" del fármaco (véase también párrafo [5], más adelante). Ejemplos: los microorganismos resistentes a la eritromicina muestran

alter
som
bos
y ce
raci
mon
alter
4) Des
alto
guna
ren l
mam
5) Des
 ejecu
afect
tente
se inf
succe

ORIGEN FÁRMACO

1. RESISTENCIA GENÉTICA

La mayor
en replica
guiente, lo
fuera de s
camente r
cendencia
micobacte
rante much
da por las
microorga
to y no pue
si comienz
inmunitad
a los mism
Los m
co" especí
por tanto h
susceptible
cientes de p
lina. La aus
los inhibido
nas) que pu
do estos m
original y se
vez más son
Los m
inaccessibles
vos. Ejemp
son eficaces
nelas, puest
dos no ingr
fármacos qu
miento de la
lización intr

alteración del receptor sobre la subunidad 50S del ribosoma como consecuencia de la metilación del RNA ribosómico en 23S. La resistencia a algunas penicilinas y cefalosporinas puede ser función de la pérdida o alteración de la PBP. La resistencia del *Streptococcus pneumoniae* y los enterococos a penicilina se debe a la alteración de la PBP.

- 4) Desarrollan una vía metabólica diferente que pasa por alto la reacción inhibida por el fármaco. **Ejemplos:** algunas bacterias resistentes a la sulfonamida no requieren PABA extracelular y, al igual que las células de mamífero, pueden utilizar ácido fólico preformado.
- 5) Desarrollan una enzima diferente que todavía puede ejecutar su función metabólica pero es mucho menos afectada por el fármaco. **Ejemplos:** en bacterias resistentes al trimetoprim, la ácido dihidrofólico reductasa se inhibe con mucha menor eficiencia que en bacterias susceptibles al trimetoprim.

ORIGEN DE LA RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS

1. RESISTENCIA DE ORIGEN NO GENÉTICO A LOS FÁRMACOS

La mayor parte de los antibacterianos requieren bacterias en replicación activa para mostrar sus acciones. Por consiguiente, los microorganismos metabólicamente inactivos (fuera de su estado de multiplicación) pueden ser fenotípicamente resistentes a los fármacos. Sin embargo, su descendencia es completamente susceptible. **Ejemplo:** las micobacterias con frecuencia sobreviven en los tejidos durante muchos años después que la infección ha sido limitada por las defensas del huésped y no se multiplican. Estos microorganismos "persistentes" son resistentes al tratamiento y no pueden ser erradicados por fármacos. No obstante, si comienzan a multiplicarse (p. ej., luego de suprimir la inmunidad celular del paciente) son totalmente susceptibles a los mismos fármacos.

Los microorganismos pueden perder la estructura "blanco" específica de un fármaco durante varias generaciones y por tanto hacerse resistentes. **Ejemplo:** los microorganismos susceptibles a la penicilina pueden cambiar a formas L-deficientes de pared celular durante la administración de penicilina. La ausencia de la pared celular les confiere resistencia a los inhibidores de la pared celular (penicilinas, cefalosporinas) que puede persistir durante varias generaciones. Cuando estos microorganismos recuperan su forma bacteriana original y se restablece la producción de la pared celular, una vez más son susceptibles a la penicilina.

Los microorganismos pueden causar infección en sitios inaccesibles a los antimicrobianos o donde éstos son inactivos. **Ejemplo:** los aminoglucósidos como la gentamicina no son eficaces en el tratamiento de la fiebre entérica por salmonelas, puesto que éstas son intracelulares y los aminoglucósidos no ingresan a las células. De manera similar, sólo los fármacos que ingresan a la célula son eficaces en el tratamiento de la enfermedad de los legionarios debido a la localización intracelular de la *Legionella pneumophila*.

2. RESISTENCIA DE ORIGEN GENÉTICO A LOS FÁRMACOS

La mayor parte de los microorganismos resistentes a los fármacos surge como resultado de cambios genéticos y de los procesos subsecuentes de selección por los antimicrobianos.

Resistencia cromosómica

Ésta se desarrolla como resultado de una mutación espontánea en un locus que controla la susceptibilidad a un antimicrobiano determinado. La presencia del antimicrobiano sirve como mecanismo de selección al suprimir los microorganismos susceptibles y favorecer el crecimiento de los mutantes resistentes al fármaco. La mutación espontánea ocurre con una frecuencia de 10^{-12} a 10^{-7} y, por tanto, es causa poco frecuente del surgimiento de la resistencia clínica a los fármacos en un paciente dado. Sin embargo, la resistencia de los mutantes cromosómicos a rifampicina ocurre con gran frecuencia (casi 10^{-7} a 10^{-5}). En consecuencia, el tratamiento de las infecciones bacterianas con rifampicina como fármaco único fracasa con frecuencia. Comúnmente, los mutantes cromosómicos son más resistentes en virtud de los cambios en un receptor estructural para el fármaco. Así, la proteína p12 sobre la subunidad 30S del ribosoma bacteriano sirve como receptor para la unión de las estreptomicinas. La mutación en el gen que controla dicha proteína estructural produce resistencia a la estreptomicina. La mutación también puede producir la pérdida de la PBP, y conferir a estos mutantes resistencia contra los fármacos β lactámicos.

Resistencia extracromosómica

Las bacterias casi siempre contienen elementos genéticos extracromosómicos denominados plásmidos. Sus características se describen en el capítulo 7.

Algunos plásmidos llevan genes para la resistencia a uno —y a menudo varios— fármacos antimicrobianos. Los genes de plásmidos de resistencia antimicrobiana con frecuencia controlan la síntesis de enzimas capaces de destruir a dichos fármacos. Por tanto, los plásmidos generan resistencia a las penicilinas y a las cefalosporinas gracias a los genes que poseen para la síntesis de β lactamasas. Los plásmidos codifican enzimas que acetilan, acetilan o fosforilan varios aminoglucósidos: enzimas que determinan el transporte activo de las tetraciclinas a través de la membrana celular; y otras enzimas.

El material genético y los plásmidos se pueden transferir mediante transducción, transformación y conjugación. Estos procesos se trataron en el capítulo 7.

RESISTENCIA CRUZADA

Los microorganismos resistentes a un determinado fármaco también pueden ser resistentes a otros fármacos que comparten un mismo mecanismo de acción. Estas interrelaciones

existen principalmente entre agentes estrechamente relacionados desde el punto de vista químico (p. ej., aminoglucósidos diferentes) o con modos similares de unión o de acción (p. ej., macrólidos-lincamicinas). En ciertos tipos de fármacos el núcleo activo de la sustancia química es tan similar entre muchos congéneres (p. ej., tetraciclinas) que se puede esperar una amplia resistencia cruzada.

LIMITACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS

En toda infección, el surgimiento de la resistencia a los fármacos puede reducirse al mínimo de las siguientes maneras: 1) mantener concentraciones lo bastante grandes del fármaco en los tejidos para inhibir la población nativa y la primera generación de mutantes; 2) administrar simultáneamente dos fármacos que no produzcan resistencia cruzada, para que cada uno retarde el surgimiento de cepas mutantes resistentes al otro fármaco (p. ej., rifampicina e isoniazida en el tratamiento de la tuberculosis); y 3) evitar la exposición de los microorganismos a un fármaco particularmente valioso, cuyo empleo debe limitarse principalmente a los hospitales.

IMPLICACIONES CLÍNICAS DE LA RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS

Unos pocos ejemplos ilustran el impacto del surgimiento de microorganismos resistentes a los fármacos y su selección por el vasto empleo de antimicrobianos.

Gonococos

Cuando se utilizaron por primera vez las sulfonamidas para el tratamiento de la gonorrea, a finales del decenio de 1930-39, prácticamente todos los gonococos aislados eran susceptibles y la mayor parte de las infecciones se curaron. Pocos años más tarde, gran parte de las cepas ya eran resistentes a sulfonamidas y la gonorrea rara vez se curaba con estos fármacos. La mayor parte de los gonococos eran aún muy susceptibles a la penicilina. En los siguientes decenios hubo un incremento gradual de la resistencia a la penicilina, pero grandes dosis de este fármaco todavía eran curativas. En el decenio de 1970-79 aparecieron los gonococos productores de β lactamasa, primero en Filipinas y en África Occidental, y luego se propagaron para formar focos endémicos a través de todo el mundo. Estas infecciones no se podían tratar eficazmente con penicilina, pero fueron curadas con espectinomina. Apareció después resistencia a la espectinomina. En la actualidad se recomiendan las cefalosporinas de tercera generación o las quinolonas para tratar la gonorrea.

Meningococos

Hasta 1962, los meningococos fueron uniformemente susceptibles a las sulfonamidas y estos fármacos eran muy eficaces

para la profilaxis y la terapéutica. Subsecuentemente, los meningococos resistentes a la sulfonamida se propagaron extensamente y en la actualidad las sulfonamidas han perdido casi toda su utilidad contra las infecciones meningocócicas. Las penicilinas aún son eficaces para el tratamiento, y se emplea rifampicina para la profilaxis. Sin embargo, los meningococos resistentes a la rifampicina persisten en casi 1% de los individuos a quienes se ha administrado rifampicina para profilaxis.

Estafilococos

En 1944, la mayor parte de los estafilococos eran susceptibles a penicilina G, aunque se habían observado unas pocas cepas resistentes. Luego del empleo masivo de la penicilina, 65 a 85% de los estafilococos aislados de hospitales en 1948 fueron productores de β lactamasa y, por tanto, resistentes a la penicilina G. Con el desarrollo de penicilinas resistentes a la β lactamasa (p. ej., nafcilina) se logró una tregua transitoria, pero los brotes de infecciones causadas por estafilococos resistentes a la nafcilina son comunes. En la actualidad, los estafilococos resistentes a la penicilina incluyen no sólo los adquiridos en el hospital sino también 80 a 90% de los aislados en la comunidad. Estos microorganismos también tienden a ser resistentes a otros fármacos, por ejemplo, tetraciclinas. Los estafilococos resistentes a la nafcilina son comunes en los hospitales de tercer nivel, pero por fortuna aún son susceptibles a la vancomicina. La vancomicina es el fármaco que se utiliza principalmente para el tratamiento de infecciones producidas por *S. aureus* nafcilina-resistente, aunque algunas cepas de *S. aureus* ya muestran *in vitro* susceptibilidad intermedia a vancomicina y podrían ser clínicamente resistentes *in vivo*.

Neumococos

El *Streptococcus pneumoniae* era uniformemente susceptible a la penicilina G hasta 1963, cuando se encontraron cepas relativamente resistentes a la penicilina en Nueva Guinea. Después aparecieron neumococos resistentes a la penicilina en Sudáfrica, Japón, España y por último en todo el mundo. En EUA, 5 a 10% de los neumococos son resistentes a la penicilina G (MIC > 2 μ g/mL), casi 20% son moderadamente resistentes (MIC 0.1 a 1 μ g/mL). La resistencia a la penicilina se debe a alteraciones en las proteínas de unión a la penicilina. La resistencia a la penicilina de los neumococos tiende a ser clonal. Con frecuencia, los neumococos también son resistentes a trimetoprim-sulfametoxazol y algunas veces a la eritromicina y a la tetraciclina.

Enterococos

Los enterococos presentan resistencia intrínseca a múltiples antimicrobianos: penicilina G y ampicilina con MIC altos; cefalosporinas con MIC muy altos; resistencia de poca intensidad a los aminoglucósidos; y resistencia al trimetoprim-sulfametoxazol *in vivo*. Los enterococos también han mostrado resistencia adquirida a casi todos, y tal vez a todos, los antimicrobianos de la manera siguiente: PBP alterada y resistencia a las β lactámicas; resistencia a grandes concentraciones de anti-

noglicósidos; y resistencia a fluoroquinolonas, macrólidos, azólicos y tetraciclinas. Algunos enterococos han desarrollado un plásmido que codifica para la enzima β lactamasa y son totalmente resistentes a la penicilina y a la ampicilina. De mayor importancia es la aparición de resistencia a la vancomicina común en Europa y América del Norte, aunque existe variación geográfica en los porcentajes de enterococos resistentes a la vancomicina. El *Enterococcus faecium* es la especie comúnmente más resistente a la vancomicina. En los brotes de infecciones causadas por enterococos resistentes a la vancomicina los enterococos aislados pueden dividirse desde el punto de vista clonal o genético. En los enterococos también se observa resistencia a las estreptograminas (quinupristina-dalfopristina).

Bacterias entéricas gramnegativas

En las bacterias entéricas casi toda la resistencia a los fármacos se atribuye a la extensa transmisión de plásmidos de resistencia entre los diferentes géneros. Casi la mitad de las cepas de especies de *Shigella* en muchas partes del mundo son en la actualidad resistentes a múltiples fármacos.

Las salmonelas que habitan en animales también han desarrollado resistencia, en particular a los fármacos (sobre todo tetraciclinas) incorporados en los alimentos para animales. La práctica de incorporar fármacos en los alimentos para animales de granja tiene como objetivo hacerlos crecer con mayor rapidez, pero se acompaña de un incremento de los microorganismos entéricos resistentes a los fármacos en la flora fecal de las personas que trabajan en dichas granjas. Un aumento concomitante de las infecciones causadas por salmonela resistente a fármacos en Inglaterra condujo a restringir los complementos de antibióticos en los alimentos para animales. En EUA el empleo continuo de complementos de tetraciclina en los alimentos de animales quizá contribuya a la propagación de plásmidos de resistencia y de salmonelas resistentes a los fármacos.

Muchas bacterias gramnegativas de la flora normal del intestino poseen plásmidos portadores de genes de resistencia a los fármacos. El empleo excesivo de antimicrobianos, sobre todo en los pacientes hospitalizados, condujo a la supresión de los microorganismos susceptibles a los fármacos en la flora del intestino y a favorecer la persistencia y el crecimiento de las bacterias resistentes, incluso *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas* y *Serratia*, así como hongos. Estos microorganismos representan problemas particularmente difíciles en los pacientes con granulocitopenia e inmunocomprometidos. El ambiente confinado de los hospitales favorece la transmisión de estos microorganismos resistentes a través del personal y de los fómites, y también por contacto directo.

Mycobacterium tuberculosis

En casi 10% de los *M. tuberculosis* aislados se observa resistencia primaria a fármacos, más comúnmente a isoniazida o estreptomina. Es menos común la resistencia a rifampicina o etambutol. La isoniazida y la rifampicina son los fármacos usados principalmente en casi todos los regímenes estándar de tratamiento; otros fármacos de primera línea son pirazina-

mida, etambutol y estreptomina. La resistencia a la isoniazida y a la rifampicina se considera como resistencia a múltiples fármacos. En EUA, la presencia de *M. tuberculosis* resistente a múltiples fármacos varía desde cero hasta 30%. En todo el mundo, las mayores tasas de tuberculosis resistente a múltiples fármacos se han informado en Nepal (48%), Gujarat, India (33.8%), ciudad de Nueva York (30.1%), Bolivia (15.3%) y Corea (14.5%). La falta de cumplimiento con el tratamiento farmacológico es el factor principal en el desarrollo de la resistencia a fármacos. El control de la tuberculosis resistente a múltiples fármacos es un problema significativo en todo el mundo.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO

La actividad antimicrobiana se cuantifica *in vitro* para determinar 1) la potencia de un antibacteriano en solución, 2) su concentración en los líquidos o tejidos del cuerpo, y 3) la susceptibilidad de un microorganismo determinado a las concentraciones conocidas del fármaco.

FACTORES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Entre los muchos factores que afectan la actividad antimicrobiana *in vitro* se deben considerar los siguientes, puesto que influyen de manera significativa en los resultados de las pruebas.

pH del ambiente

Algunos fármacos son más activos a pH ácido (p. ej., nitrofurantoina); otros, a pH alcalino (p. ej., aminoglicósidos, sulfonamidas).

Componentes del medio

El polianetolsulfonato sódico (en medios de cultivo en sangre) y otros detergentes aniónicos inhiben los aminoglicósidos. En extractos de tejidos el PABA antagoniza a las sulfonamidas. Las proteínas del suero se unen a las penicilinas en grado variable, desde 40% para la metilicina hasta 98% para la dicloxacilina. La adición de NaCl al medio aumenta la resistencia detectada a la metilicina en el *S. aureus*.

Estabilidad del fármaco

Varios antimicrobianos pierden su actividad a la temperatura de incubación. Las penicilinas se inactivan de manera

lenta, en tanto que los aminoglucósidos y la ciprofloxacina son bastante estables durante periodos largos.

Magnitud del inóculo

En general, cuanto mayor sea el inóculo bacteriano menor será la "susceptibilidad" aparente del microorganismo. Las grandes poblaciones bacterianas se inhiben más lentamente y menos completamente en comparación con las poblaciones más pequeñas. Además, en las poblaciones grandes es mucho más probable que surja una mutante resistente.

Tiempo de incubación

En muchos casos, los microorganismos no mueren después de una corta exposición a los antimicrobianos, sino sólo se inhiben. Cuanto más tiempo dure la incubación mayor es la probabilidad de que aparezcan mutantes resistentes, o que los miembros de la población menos susceptibles al antimicrobiano comiencen a multiplicarse conforme el fármaco se degrada.

Actividad metabólica de los microorganismos

En general, los microorganismos que crecen activamente y con rapidez son más susceptibles a la acción del fármaco que aquéllos en la fase de reposo. Los microorganismos metabólicamente inactivos que sobreviven a la exposición prolongada a un fármaco pueden tener descendencia totalmente susceptible al mismo fármaco.

MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

La determinación de la susceptibilidad de un patógeno bacteriano a los agentes antimicrobianos se puede realizar a través de uno de dos métodos principales: dilución o difusión. Es importante utilizar un método estandarizado que controle todos los factores que afectan la actividad antimicrobiana; en EUA, las pruebas se llevan a cabo de acuerdo con los métodos del *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (Comité Nacional para los Estándares del Laboratorio Clínico). Estas pruebas también se estudiarán en el capítulo 47.

Con utilización de un microorganismo estándar de prueba apropiado y de una muestra conocida del fármaco para comparación, estos métodos pueden emplearse para estimar la potencia de un antibiótico o la susceptibilidad del microorganismo en la muestra.

Método de dilución

Cantidades graduadas de la sustancia antimicrobiana se incorporan al medio bacteriológico líquido o sólido. Por lo común,

se utilizan diluciones al doble ($\log_2$) de sustancias antimicrobianas. A continuación se inocula el medio con la bacteria a prueba y se incuba. Se considera punto final de la prueba la cantidad de la sustancia antimicrobiana necesaria para inhibir el crecimiento, o lograr la muerte, de la bacteria. La duración de las pruebas de susceptibilidad mediante dilución en agar es prolongada, y su empleo se limita a circunstancias especiales. Las pruebas de dilución en caldo son problemáticas y se emplean poco cuando las diluciones deben efectuarse en tubos de ensayo; sin embargo, el desarrollo de caldos ya preparados en dilución en serie para muchos fármacos diferentes en placas de microdilución mejoró y simplificó mucho el método. La ventaja de las pruebas de dilución en caldo por microdilución es que permiten comunicar un resultado cuantitativo, y señalar la cantidad necesaria de un fármaco determinado para inhibir (o matar) el microorganismo analizado.

Método de difusión

El método utilizado más comúnmente en todo el mundo es la prueba de difusión en disco. Un disco de papel filtro que contiene una cantidad precuantificada de un fármaco en particular se coloca en la superficie de un medio sólido que ha sido inoculado en la superficie con el organismo a prueba.

Después de la incubación, el diámetro de la zona clara de inhibición que rodea el disco se toma como medida de la potencia inhibidora del fármaco contra el microorganismo en particular de prueba. Este método está sujeto a la influencia de muchos factores físicos y químicos, además de la simple interacción entre el fármaco y los microorganismos (p. ej., la naturaleza del medio y la difusibilidad, el tamaño molecular y la estabilidad del fármaco). No obstante, la estandarización de las condiciones permite la determinación de la susceptibilidad del organismo.

La interpretación de los resultados de las pruebas debe basarse en comparaciones entre los métodos de dilución y de difusión. Esta comparación condujo a establecer estándares de referencia. Las curvas de regresión lineal pueden expresar la interrelación entre el logaritmo de la concentración mínima inhibidora en las pruebas de dilución y el diámetro de las zonas de inhibición en las pruebas de difusión.

El empleo de un solo disco para cada antibiótico y la estandarización cuidadosa de las condiciones de la prueba permiten conocer la susceptibilidad o la resistencia de un microorganismo al comparar la magnitud de la zona de inhibición contra un estándar del mismo fármaco.

La inhibición alrededor de un disco que contiene una cierta cantidad de antimicrobiano no implica la susceptibilidad a esa misma concentración del fármaco por mililitro de medio, sangre u orina.

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA *IN VIVO*

El análisis de la actividad de agentes antimicrobianos *in vivo* es mucho más complejo que las circunstancias *in vitro*. La

actividad
bien un
se anal
parásit
creción
estudia

INTERFERENCIA

En las p
importa
son fac

1. AM

En el h
tan a lo
y en dis
ensayo
para los
la respu
uniform

Estad

En el cu
sin duda
do men
vamente
microor
exposic
pués pu

Distrib

En el cu
igual en
tienen a
concent
en sang
inducida
tejidos
evitar su

Locali

En el cu
tro de la
células d
(ciclina)
monocit
(micina),
huésped,
microorgan

actividad no sólo implica al fármaco y al parásito, sino también un tercer factor, el huésped. En los siguientes párrafos se analizan las interrelaciones fármaco-parásito y huésped-parásito. La interrelación huésped-fármaco (absorción, excreción, distribución, metabolismo y toxicidad) son temas estudiados principalmente en los textos de farmacología.

INTERRELACIONES FÁRMACO-PATÓGENO

En las páginas precedentes se analizan varias interacciones importantes entre el fármaco y el patógeno. Los siguientes son factores adicionales importantes *in vivo*.

1. AMBIENTE

En el huésped, las influencias ambientales cambiantes afectan a los microorganismos localizados en diferentes tejidos y en distintas partes del cuerpo, en contraste con el tubo de ensayo o la caja de Petri, donde el ambiente es constante para los miembros de una población microbiana. Por tanto, la respuesta de la población microbiana es mucho menos uniforme dentro del huésped que en el tubo de ensayo.

Estado de la actividad metabólica

En el cuerpo, el estado de la actividad metabólica es diversa; sin duda, muchos microorganismos se encuentran con un grado menor de su actividad biosintética y por tanto son relativamente no susceptibles a la acción del fármaco. Estos microorganismos "inactivos" con frecuencia sobreviven a la exposición de grandes concentraciones de fármacos y después pueden producir una recaída clínica de la infección.

Distribución del fármaco

En el cuerpo el antimicrobiano se distribuye de manera desigual en los tejidos y en los líquidos. Muchos fármacos no tienen acceso suficiente al sistema nervioso central. La concentración en orina casi siempre es mucho mayor que en sangre o en otros tejidos. A veces la respuesta tisular inducida por el microorganismo lo protege del fármaco. Los tejidos necrosados o el pus pueden absorber el fármaco y evitar su contacto con la bacteria.

Localización de los microorganismos

En el cuerpo con frecuencia se localizan microorganismos dentro de las células de los tejidos. Los fármacos penetran a las células de los tejidos con diferente tasa. Algunos (p. ej., tetraciclina) casi alcanzan la misma concentración dentro de los monocitos que en el líquido extracelular. Otros (p. ej., gentamicina), probablemente no penetran en absoluto a las células huésped. Esto contrasta con el tubo de ensayo, donde los microorganismos entran en contacto directo con el fármaco.

Sustancias que interfieren

En el cuerpo, el ambiente bioquímico de los microorganismos es muy complejo y produce interferencia significativa con la acción del fármaco. Éste puede unirse a las proteínas o a los fosfolípidos sanguíneos y tisulares, también puede reaccionar con los ácidos nucleicos en el pus y adsorberse físicamente sobre exudados, células y residuos necrosados. En los tejidos necrosados el pH puede ser muy ácido y por tanto desfavorable para la acción del fármaco (p. ej., aminoglucósidos).

2. CONCENTRACIÓN

En el cuerpo, los microorganismos no están expuestos a una concentración constante del fármaco; en el tubo de ensayo sí lo están.

Absorción

La absorción de los fármacos en el intestino (cuando se administran por vía oral) o de los tejidos (cuando se inyectan) es irregular. También hay excreción e inactivación continuas del fármaco. En consecuencia, la concentración del fármaco en los compartimientos del cuerpo oscila continuamente y los microorganismos se exponen a concentraciones variables del antimicrobiano.

Distribución

La distribución de los fármacos varía en gran medida en los diferentes tejidos. Algunos fármacos penetran escasamente a ciertos tejidos (p. ej., sistema nervioso central, próstata). La concentración del fármaco después de la administración por vía sistémica puede ser inadecuada para un tratamiento eficaz. Sobre heridas superficiales o membranas mucosas, como la conjuntiva la aplicación local (tópica) de fármacos poco absorbibles permite concentraciones locales muy eficaces sin efectos adversos colaterales. Por el contrario, algunos fármacos aplicados tópicamente sobre las heridas superficiales también se absorben. Con frecuencia la concentración del fármaco en la orina es mucho más alta que en la sangre.

Variabilidad de la concentración

Es crucial mantener una concentración eficaz del fármaco donde han proliferado microorganismos infectantes. Esta concentración debe mantenerse durante un tiempo suficiente para erradicar los microorganismos. Puesto que el fármaco se administra de manera intermitente, y se absorbe y excreta de manera irregular, su concentración oscila continuamente en el sitio infectado. Para mantener una concentración eficaz del fármaco durante tiempo suficiente hay que conocer la interrelación tiempo-dosis. Cuanto mayor sea la dosis individual de cada fármaco, mayor será el intervalo permisible entre las dosis. Cuanto menor sea la dosis individual, menor será el intervalo que garantiza concentraciones adecuadas del fármaco.

Efecto posantibiótico

El efecto posantibiótico es el retardo en la reanudación del crecimiento de las bacterias después de la exposición a los antimicrobianos. Es una propiedad de la mayor parte de los antimicrobianos, excepto que con los bacilos gramnegativos la mayor parte de los β lactámicos no muestran el efecto posantibiótico. Los carbapenems sí tienen un efecto posantibiótico con los bacilos gramnegativos.

INTERRELACIONES HUESPED-PATOGENO

Las interrelaciones huésped-patógeno pueden alterarse por los antimicrobianos de varias maneras.

Alteración de la respuesta en los tejidos

La respuesta inflamatoria a la infección de los tejidos puede alterarse si el fármaco suprime la multiplicación de los microorganismos pero no los elimina del cuerpo, y de esta manera un proceso agudo puede transformarse en uno crónico. Por el contrario, en la supresión de las reacciones inflamatorias en los tejidos por deficiencia de la inmunidad mediada por células, como ocurre en un receptor de trasplante de tejidos, en caso de terapéutica antineoplásica, o de enfermedades que causan inmunodeficiencia (p. ej., SIDA), la susceptibilidad a la infección aumenta y la respuesta a los antimicrobianos es deficiente.

Alteración de la respuesta inmunitaria

Si un antimicrobiano modifica una infección, la respuesta inmunitaria del huésped también puede alterarse. Un ejemplo es suficiente para ilustrar este fenómeno: la infección de la faringe con estreptococos β hemolíticos del grupo A es seguida con frecuencia del desarrollo de anticuerpos antiestreptococo y si se presenta una respuesta hiperinmune a la infección puede presentarse fiebre reumática. Cuando el proceso infeccioso se interrumpe de manera temprana y completa mediante antimicrobianos, se puede impedir el desarrollo de la respuesta inmunitaria y de fiebre reumática (presuntamente por eliminación rápida del antígeno). Los fármacos y las dosis que erradican con prontitud al estreptococo infectante (p. ej., penicilina) son más eficaces para prevenir la fiebre reumática que aquellos que simplemente suprimen el microorganismo transitoriamente (p. ej., tetraciclina).

Alteración de la flora microbiana

Los antimicrobianos no sólo afectan a los microorganismos causantes de enfermedades, sino también a miembros susceptibles de la flora microbiana normal. Se genera así un

desequilibrio que por sí mismo puede causar enfermedad. Algunos ejemplos de interés son los siguientes:

- 1) En los pacientes hospitalizados, a quienes se administran antimicrobianos, se suprime la flora microbiana normal. Esto genera un vacío parcial llenado por los microorganismos más prevalentes en el ambiente, en particular las bacterias aeróbicas gramnegativas (p. ej., pseudomonas, estafilococos). Estos microorganismos superinfectantes pueden producir subsecuentemente graves infecciones resistentes a los fármacos.
- 2) En las mujeres a quienes se administran fármacos por vía oral se puede suprimir la flora vaginal normal y permitir el crecimiento excesivo de *Candida*. Esto provoca inflamación local desagradable (vulvovaginitis) y prurito difícil de controlar.
- 3) En presencia de obstrucción del aparato urinario es mayor la tendencia a la infección de la vejiga. Si esta infección del aparato urinario causada por microorganismos susceptibles (p. ej., *Escherichia coli*) se trata con un fármaco apropiado, el microorganismo puede erradicarse. Sin embargo, a menudo sucede que la infección debida a otro bacilo gramnegativo resistente al fármaco se presenta después de eliminar al microorganismo sensible al fármaco. Un proceso similar explica las superinfecciones del conducto respiratorio de los pacientes a quienes se administran antimicrobianos para el tratamiento de la bronquitis crónica.
- 4) En las personas sometidas a tratamiento con antimicrobianos orales durante varios días se puede suprimir una parte de la flora intestinal normal. Gran número de microorganismos resistentes a los fármacos puede establecerse en el intestino y desencadenar enterocolitis grave (*Clostridium difficile*, etc.).

EMPLEO CLÍNICO DE LOS ANTIBIÓTICOS

SELECCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS

La selección racional de los antimicrobianos depende de lo siguiente:

Diagnóstico

Debe establecerse un diagnóstico etiológico específico. Casi siempre esto se logra con base en la impresión clínica. Así, en la neumonía lobar clásica, o en la infección aguda del aparato urinario, la interrelación entre el cuadro clínico y el agente causal es lo bastante constante como para permitir seleccionar el antibiótico adecuado solamente basado en la impresión clínica. Sin embargo, incluso en estos casos, y como salvaguarda contra un error diagnóstico, es preferible obte-

ner una muestra representativa para estudio bacteriológico antes de iniciar la administración de los antimicrobianos.

En la mayor parte de las infecciones la interrelación entre el agente causal y el cuadro clínico no es constante. Por tanto, es importante obtener muestras apropiadas para la identificación bacteriológica del agente causal. Tan pronto como se han recolectado dichas muestras, se puede iniciar la quimioterapia con base en "la mejor conjetura". Una vez identificado el agente causal por exámenes de laboratorio, el tratamiento inicial puede modificarse según se requiera.

La "suposición más certera" de un microorganismo causal se basa en las siguientes consideraciones, entre otras: 1) sitio de la infección (p. ej., neumonía, infección del aparato urinario); 2) edad del paciente (p. ej., meningitis: neonatal, niño de corta edad, adulto); 3) lugar donde se contrajo la infección (hospital en comparación con la comunidad); 4) factores predisponentes mecánicos (venoclisis, catéter urinario, respirador, exposición a un vector); y 5) factores predisponentes del huésped (inmunodeficiencia, corticosteroides, trasplante, quimioterapia del cáncer, etc.).

Cuando se conoce el agente causal de una infección clínica, es posible seleccionar el fármaco adecuado con base en la experiencia clínica actual. Otras veces, es necesario practicar pruebas de laboratorio de susceptibilidad a los antibióticos (véase después) para determinar el fármaco apropiado.

Pruebas de susceptibilidad

Las pruebas de laboratorio para susceptibilidad a los antibióticos están indicadas en las siguientes circunstancias: 1) cuando el microorganismo aislado es de un tipo frecuentemente resistente a los antimicrobianos (p. ej., bacterias entericas gramnegativas); 2) cuando es probable que el proceso infeccioso sea mortal, a menos que sea tratado en forma específica (p. ej., meningitis, septicemia); y 3) en ciertas infecciones donde la erradicación de los microorganismos infecciosos requiere el empleo de fármacos rápidamente bactericidas y no sólo bacteriostáticos (p. ej., endocarditis infecciosa). En este capítulo se presentan antes los principios básicos de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. En el capítulo 47 se estudian aspectos adicionales de dichas pruebas.

PELIGROS DEL USO INDISCRIMINADO

Las siguientes precauciones son dignas de considerar antes de indicar la administración de los antibióticos:

- 1) La sensibilización de una vasta población, que resulta en hipersensibilidad, anafilaxia, erupciones, fiebre, trastornos hematológicos, hepatitis colestática, y a veces enfermedades de la colágena vascular.
- 2) Los cambios en la flora normal del cuerpo y la subsecuente "superinfección" causada por el excesivo desarrollo de microorganismos resistentes a fármacos.
- 3) El enmascaramiento de la infección grave sin erradicarla. Por ejemplo, las manifestaciones clínicas de un absceso pueden suprimirse en tanto el proceso infeccioso continúa.

- 4) La toxicidad directa del fármaco (p. ej., granulocitopenia o trombocitopenia con las cefalosporinas y las penicilinas, y daño renal o lesión del nervio auditivo causados por los aminoglucósidos).
- 5) El desarrollo de la resistencia a los fármacos en la población microbiana, en particular por eliminación de los microorganismos susceptibles al fármaco en un ambiente saturado de antibióticos (p. ej., hospitales) y su reemplazo por microorganismos resistentes al fármaco.

ANTIMICROBIANOS EMPLEADOS EN COMBINACIÓN

Indicaciones

Las posibles razones para emplear dos o más antimicrobianos de manera simultánea, en lugar de un solo fármaco, son las siguientes:

- 1) Suministrar el tratamiento inmediato a los pacientes gravemente enfermos y bajo sospecha de padecer infección microbiana aguda. Una buena suposición es considerar los 2 o 3 patógenos más probables y administrar los fármacos contra esos microorganismos. Antes de iniciar el tratamiento es indispensable obtener muestras apropiadas para identificar el agente etiológico en el laboratorio. Las indicaciones más conspicuas en esta categoría son la sospecha de septicemia por gramnegativos o por estafilococos en los pacientes inmunodeficientes y la meningitis bacteriana en los niños.
- 2) Retardar el surgimiento de mutantes microbianos resistentes a un fármaco en las infecciones crónicas, mediante el empleo de 2 o 3 fármacos que no presenten reacción cruzada. El ejemplo más notable es la tuberculosis activa.
- 3) Tratar infecciones mixtas, en particular las causadas por traumatismo masivo o cuando afectan estructuras vasculares. Cada fármaco se dirige contra un microorganismo patógeno importante.
- 4) Lograr sinergia bactericida o suministrar acción bactericida (véase más adelante). En pocas infecciones, por ejemplo septicemia por enterococo, la probabilidad de que una combinación de fármacos erradique la infección es mayor que con cualquier fármaco utilizado solo. Esta sinergia sólo es parcialmente predecible, y un determinado par de fármacos a veces sólo muestra sinergia para una cepa microbiana. En ocasiones el empleo simultáneo de dos fármacos permite reducir de manera significativa la dosis y disminuir la toxicidad, y aun así suministrar acción antimicrobiana satisfactoria.

Desventajas

Siempre se deben considerar las siguientes desventajas del empleo de combinaciones de antimicrobianos:

- 1) El médico puede considerar que con el empleo de varios fármacos se hace todo lo posible por el paciente, y esto conduce a descuidar el esfuerzo para establecer un

diagnóstico específico. También puede proporcionar un falso sentido de seguridad.

- 2) Cuanto mayor es el número de fármacos administrados, mayor es la probabilidad de la aparición de reacciones a éstos, o que el paciente se sensibilice a ellos.
- 3) El costo es innecesariamente mayor.
- 4) Las combinaciones antimicrobianas generalmente no logran más que un solo fármaco eficaz.
- 5) Muy raras veces se puede observar antagonismo entre dos fármacos administrados de manera simultánea (véase más adelante).

Mecanismos

Cuando dos antimicrobianos actúan de manera simultánea sobre una población microbiana homogénea, el efecto puede ser uno de los siguientes: 1) indiferente, o sea, la acción combinada no es mayor que la del agente más eficaz utilizado solo; 2) adición, o sea, la acción combinada equivale a la suma de las acciones de cada fármaco cuando se utilizan solos; 3) sinergia, o sea, la acción combinada es significativamente mayor que la suma de ambos efectos; o 4) antagonismo, es decir, la acción combinada es menor que la del agente más eficaz cuando se emplea solo. Todos estos efectos pueden observarse *in vitro* (particularmente en términos de tasa bactericida) así como *in vivo*.

Los efectos que pueden lograrse con las combinaciones de los antimicrobianos varían según la combinación y son específicos para cada cepa de microorganismo. Por tanto, no hay combinación que sea uniformemente sinérgica.

La terapéutica combinada no debe emplearse de manera indiscriminada; hay que esforzarse para emplear el antibiótico de elección solo. En las infecciones resistentes a veces un estudio detallado de laboratorio puede definir las combinaciones farmacológicas sinérgicas capaces de erradicar los microorganismos.

El sinergismo antimicrobiano puede presentarse en varias situaciones. Las combinaciones farmacológicas sinérgicas se seleccionan mediante complejos procedimientos de laboratorio.

1. Dos fármacos pueden bloquear de manera secuencial una vía metabólica microbiana. Las sulfonamidas inhiben el aprovechamiento por algunos microorganismos del ácido *p*-aminobenzoico extracelular para la síntesis del ácido fólico. El trimetoprim o la pirimetamina inhiben el siguiente paso metabólico: la reducción del ácido dihidrofólico a tetrahidrofólico. El empleo simultáneo de sulfonamida más trimetoprim es eficaz en algunas infecciones bacterianas (shigelosis, salmonelosis, serratia), e infecciones de otro tipo (neumocistosis, paludismo). En la toxoplasmosis se emplea pirimetamina y además sulfonamida o clindamicina.
2. Un fármaco, como los inhibidores de la pared celular (penicilina o cefalosporina), puede incrementar la entrada de un aminoglucósido a la bacteria y por tanto producir efectos sinérgicos. Las penicilinas aumentan la captación de la gentamicina o de la estreptomina por los enterococos. Por tanto, a veces se requiere am-

picilina más gentamicina para erradicar el *Enterococcus faecalis*, sobre todo en la endocarditis. De manera similar, la piperacilina y la tobramicina pueden ser sinérgicas contra algunas cepas de pseudomonas.

3. Un fármaco puede afectar la membrana celular y facilitar la entrada de un segundo fármaco. El efecto combinado es entonces mayor que la suma de sus partes. Por ejemplo, la anfotericina es sinérgica con la flucitosina contra ciertos hongos (por ejemplo, *Cryptococcus*, *Candida*).
4. Un fármaco puede evitar la inactivación de un segundo fármaco por las enzimas microbianas. Así, los inhibidores de la β lactamasa (p. ej., ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam) protegen a la amoxicilina, la ticarcilina, o la piperacilina de la inactivación por la β lactamasa. Esta es una modalidad de sinergia que acontece en estas circunstancias.

El antagonismo microbiano está limitado con gran precisión por la interrelación tiempo-dosis y por consiguiente es un evento raro en la terapéutica antimicrobiana. En la meningitis bacteriana se ha demostrado con claridad un antagonismo causante de mayores tasas de morbilidad y mortalidad. Se presenta cuando un fármaco bacteriostático (inhibidor de la síntesis de las proteínas bacterianas) como el cloranfenicol o la tetraciclina, se administra junto con un fármaco bactericida como la penicilina o un aminoglucósido. El antagonismo aparece principalmente cuando el fármaco bacteriostático alcanza el sitio de la infección antes que el fármaco bactericida; si para la curación es indispensable un efecto bactericida; o si cualquiera de los fármacos del par se encuentra presente en dosis mínima eficaz. Otro ejemplo es la combinación de fármacos β lactámicos en el tratamiento de las infecciones por *P. aeruginosa* (p. ej., imipenem y piperacilina, donde el imipenem es un inductor potente de la β lactamasa y la β lactamasa desdobra la piperacilina menos estable).

QUIMIOPROFILAXIS ANTIMICROBIANA

La quimioprofilaxis antiinfecciosa implica la administración de antimicrobianos para prevenir la infección. En un sentido más amplio, incluye también el empleo de antimicrobianos poco después de la infección con microorganismos patógenos (p. ej., después de fracturas compuestas), pero antes que se desarrollen los signos de la infección.

La utilidad de la quimioprofilaxis se limita a la acción de un fármaco específico sobre un microorganismo específico. Cuando se intenta prevenir la infección por todo tipo de microorganismo presente en el ambiente sólo se consigue seleccionar los microorganismos más resistentes al fármaco, los cuales serán causa de la infección subsiguiente. En todos los casos que se proponga emplear antimicrobianos como profilácticos debe ponderarse el riesgo de que el paciente contraiga una infección contra la toxicidad, el costo, los inconvenientes y la mayor posibilidad de una infección agregada como resultado del fármaco profiláctico.

1. PR
CO
EX
ES

En esta
prevención
la inyección
vez cada
estreptococos
máticos
miento
la prevención
G benz
adminis
a las go
nica cau
ingestión
prevención
dotoxicidad

El
veces se
niacida
oral dur
convier
positiva
activa.

2. PR
SU

Ciertas
infección
hacerlas
cítico d
nan algu

Cardio

Las pers
sis valv
implanta
niente
puede p
rante los
tos dent
circula
moment
bianos p
Por ejem
vía oral
personas
entromi
por vía

Los
carditis
de los ap
no. Dura
sonas co

1. PROFILAXIS EN PERSONAS CON SUSCEPTIBILIDAD NORMAL EXPUESTAS A UN PATÓGENO ESPECÍFICO

En esta categoría se administra un fármaco específico para prevenir una infección específica. Los ejemplos notables son la inyección de penicilina G benzatínica intramuscular una vez cada 3 a 4 semanas para prevenir la reinfección con estreptococo hemolítico del grupo A en los pacientes reumáticos; la prevención de la meningitis mediante el tratamiento con rifampicina de los portadores del meningococo; la prevención de la sífilis mediante inyección de penicilina G benzatínica; la prevención de la peste neumónica por la administración oral de tetraciclina a las personas expuestas a las gotas infecciosas; la prevención de la enfermedad clínica causada por rickettsias (pero no de la infección) por ingestión diaria de tetraciclina durante la exposición, y la prevención de la leptospirosis por administración oral de doxiciclina en un ambiente hiperendémico.

El tratamiento inicial de una infección asintomática a veces se denomina profilaxis. Así, la administración de isoniácida, 6 a 10 mg/kg/día (máximo, 300 mg/día) por vía oral durante 6 a 12 meses, a una persona asintomática que convierte la prueba cutánea de tuberculina de negativa a positiva puede evitar el desarrollo de la tuberculosis clínica activa.

2. PROFILAXIS EN PERSONAS CON SUSCEPTIBILIDAD AUMENTADA

Ciertas anomalías anatómicas o funcionales predisponen a infecciones graves. A veces es fácil prevenir infecciones o hacerlas abortar con la administración de un fármaco específico durante periodos breves. A continuación se mencionan algunos ejemplos importantes:

Cardiopatía

Las personas con válvulas cardíacas anormales o con prótesis valvulares cardíacas son excepcionalmente susceptibles a implantación de los microorganismos que circulan en la corriente sanguínea. En ocasiones la endocarditis infecciosa puede prevenirse con el empleo del fármaco apropiado durante los periodos de bacteriemia. Durante los procedimientos dentales y las operaciones en boca o faringe entran a la circulación gran número de estreptococos viridans. En tales momentos el mayor riesgo justifica el empleo de antimicrobianos profilácticos dirigidos contra el estreptococo viridans. Por ejemplo, puede ser eficaz administrar amoxicilina por vía oral antes del procedimiento y dos horas después. A las personas alérgicas a la penicilina se les puede administrar eritromicina por vía oral. Otros esquemas de administración por vía oral y parenteral también pueden ser eficaces.

Los enterococos causan 5 a 15% de los casos de endocarditis infecciosas. Alcanzan la circulación sanguínea a partir de los aparatos urinarios, gastrointestinal o genital femenino. Durante los procedimientos en estas regiones, a las personas con prótesis o anomalías valvulares cardíacas se

les debe administrar ampicilina combinada con un aminoglucósido (p. ej., gentamicina), ambos por vía intramuscular o intravenosa 30 min antes del procedimiento.

Durante y después de una cateterización cardíaca, el hemocultivo puede ser positivo en 10 a 20% de los pacientes. Muchas de estas personas también presentan fiebre, pero muy pocas contraen endocarditis. Los antimicrobianos profilácticos no parecen influir en estos eventos.

Enfermedad del aparato respiratorio

Las personas con anomalías funcionales y anatómicas de las vías respiratorias, por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) o bronquiectasia, están propensas a sufrir ataques de bronquitis crónica. Ésta es una infección bacteriana recidivante, con frecuencia desencadenada por infecciones virales agudas y como resultado se desarrolla descompensación respiratoria. Los microorganismos más comunes son los neumococos y el *H. influenzae*. Se pueden administrar antibióticos a pacientes con EPOC en las situaciones clínicas siguientes: como profilaxis para pacientes con recurrencias frecuentes de bronquitis crónica; para tratar un episodio agudo de bronquitis; o para tratar exacerbaciones graves de la EPOC. Éste es poca evidencia que sustenta el uso profiláctico de antibióticos, aunque los pacientes con exacerbaciones agudas de bronquitis crónica con modificaciones de las características o cantidad de su esputo sí se benefician con la terapia antibiótica. A los niños con fibrosis quística no hospitalizados se les puede aplicar profilaxis simple contra infecciones bacterianas. No obstante, estos niños contraen complicaciones infecciosas causadas por pseudomonas y estafilococos. Para profilaxis contra la neumonía por neumocistis en los pacientes con SIDA se pueden emplear trimetoprim-sulfametoxazol por vía oral o aerosol de pentamida.

Infección recidivante del aparato urinario

En ciertas mujeres afectadas por infección recidivante del aparato urinario, la administración oral diaria o tres veces por semana de nitrofurantoína o de trimetoprim-sulfametoxazol puede reducir notablemente la frecuencia de las recidivas sintomáticas durante periodos prolongados.

Algunas mujeres tienden a desarrollar síntomas de cistitis después del coito. La ingestión de una sola dosis de antimicrobiano (nitrofurantoína, trimetoprim-sulfametoxazol, etc.) puede prevenir la cistitis poscoito por inhibición temprana del crecimiento de las bacterias desplazadas del vestíbulo de la vagina a la uretra proximal o a la vejiga durante el coito.

Infecciones por oportunistas en la granulocitopenia grave

Los pacientes inmunosuprimidos a quienes se practica trasplante de órganos o están sometidos a quimioterapia antineoplásica casi siempre desarrollan leucopenia grave. Cuando la cifra de neutrófilos desciende por debajo de 1 000/ μ L, es-

tos pacientes son excepcionalmente susceptibles a las infecciones por microorganismos oportunistas, con gran frecuencia septicemia por gramnegativos. A veces se administran fluoroquinolona o cefalosporina, o una combinación de fármacos (p. ej., vancomicina, gentamicina, cefalosporina) dirigida hacia los oportunistas más prevalentes, al primer signo —o incluso sin evidencia clínica— de infección. Este tratamiento se continúa durante varios días en tanto aumenta la cifra de granulocitos. Numerosos estudios sugieren que este procedimiento confiere cierto beneficio. Dos casos clínicos, el trasplante de hígado y el de médula ósea, que se estudian en el capítulo 48 ilustran las infecciones que padecen estos pacientes y los antimicrobianos empleados para la profilaxis y el tratamiento.

3. PROFILAXIS EN LA CIRUGÍA

Una gran proporción de todos los antimicrobianos empleados en los hospitales se utilizan en las salas quirúrgicas como profilaxis.

La profilaxis quirúrgica amerita considerar algunas normas generales:

- 1) En procedimientos quirúrgicos limpios y programados (o sea, procedimientos donde no se atraviesan tejidos poseedores de flora normal salvo la piel preparada quirúrgicamente), las desventajas de la profilaxis "rutinaria" con antibióticos (alergia, toxicidad, superinfección) generalmente superan los posibles beneficios, excepto durante la instalación de dispositivos mecánicos (p. ej., articulación artificial de la cadera). Sin embargo, aun en la herniorrafia "limpia" una sola dosis de cefalosporina antes de la operación produce beneficio cuantificable.
- 2) La administración profiláctica de antibióticos debe considerarse, en general, sólo si la tasa esperada de complicaciones infecciosas es de 3 a 5%. Una excepción a esta regla es la instalación electiva de prótesis (cardiovascular, ortopédica) en la que una posible infección tendría un efecto catastrófico.
- 3) La dosis inicial del antibiótico profiláctico sistémico debe suministrarse al momento de inducir la anestesia. Una excepción es la intervención quirúrgica colónica electiva, en cuyo caso se debe suministrar antibióticos orales horas antes del procedimiento.
- 4) La administración prolongada de antimicrobianos tiende a alterar la flora normal de los órganos y a suprimir los microorganismos susceptibles a favorecer la implantación de aquéllos resistentes al fármaco. Por tanto, la profilaxis antimicrobiana en general se continúa no más de un día después del procedimiento y en condiciones ideales sólo se debe administrar antes de la operación.
- 5) Las concentraciones sistémicas de los antimicrobianos habitualmente no previenen la infección en la herida, ni evitan neumonía o infección del aparato urinario cuando hay anomalías fisiológicas o cuerpos extraños.

La profilaxis tópica con antimicrobianos (sitio del catéter intravenoso, catéter, drenaje urinario cerrado, interior de una

herida quirúrgica, cemento acrílico de hueso, etc.) tiene utilidad limitada.

DESINFECTANTES

Los desinfectantes y los antisépticos difieren de los antimicrobianos activos por vía sistémica por su escasa toxicidad selectiva: son tóxicos para los patógenos microbianos y también para las células del huésped. Por tanto, sólo pueden emplearse para inactivar microorganismos en el ambiente inanimado o, en grado limitado, sobre la superficie de la piel. No pueden administrarse por vía sistémica.

La acción antimicrobiana de los desinfectantes depende de la concentración, el tiempo y la temperatura, y la evaluación de su efecto puede ser complicada. En el cuadro 10-1 se enumeran algunos ejemplos de los desinfectantes empleados en medicina o en salud pública.

ANTIMICROBIANOS PARA ADMINISTRACIÓN SISTÉMICA

Consultar en el cuadro 10-2 una lista de microorganismos infectantes y los fármacos primarios y alternativos respectivos seleccionados para combatirlos.

PENICILINAS

Las penicilinas se derivan de hongos del género *Penicillium* (p. ej., *Penicillium notatum*) y se obtienen por extracción de cultivos en un medio especial. La penicilina natural más ampliamente empleada es la penicilina G. A partir de los caldos de fermentación de *Penicillium* se aísla el ácido 6-aminopenicilánico en gran escala. Esto permite sintetizar una variedad casi ilimitada de compuestos de penicilina al acoplar el grupo amino libre del ácido penicilánico a los grupos carboxilo libres de diferentes radicales.

Todas las penicilinas presentan la misma estructura básica (véase el ácido 6-aminopenicilánico en la figura 10-1). Un anillo tiazolidina está unido a un anillo β lactámico que posee un grupo amino libre. Los radicales ácidos unidos al grupo amino pueden separarse mediante amidasa bacterianas y de otro tipo. La integridad estructural del ácido 6-aminopenicilánico es indispensable para la actividad biológica de los compuestos. Cuando las enzimas como β lactamasa (penicilinasas) rompen el anillo β lactámico, el

Cuadro 10-1. Desinfectantes químicos prácticos

Desinfección de objetos inanimados en el ambiente Mesas, instrumentos	Lisol u otros compuestos fenólicos Formaldehído Glutaraldehído acuoso Compuestos cuaternarios de amonio
Excretas, vendajes, orinales	Hipoclorito de sodio Lisol u otros compuestos fenólicos
Aire	Vapor o aerosol de propilenglicol Vapor de formaldehído
Instrumentos sensibles al calor	Gas de óxido de etileno (ácidos nucleicos alquilados; el gas residual debe retirarse mediante ventilación)
Desinfección de piel o heridas	Lavados con agua y jabón Jabón o detergentes que contienen hexaclorofeno o tricloro carbanilida o clorhexidina Tintura de yodo Alcohol etílico; alcohol isopropílico Yodo povidona (hidrosoluble) Jalea o solución de nitrofurazona
Fármacos tópicos para piel o mucosas En candidiasis	Crema de nistatina Ungüento de candidina Cremas de miconazol
En quemaduras	Crema de acetato de mafenida Sulfadiazina argéntica
En dermatofitosis	Polvo o crema de ácido undecilénico Crema de tolnaftato Crema de azol
En pododermia	Ungüento bacitracina-neomicina-polimixina Permanganato de potasio
En pediculosis	Loción de malatión o de permetrina
Aplicación tópica de fármacos en los ojos Para profilaxis de gonorrea	Ungüento de eritromicina o de tetraciclina
Para conjuntivitis bacteriana	Ungüento de sulfacetamida Ungüento de gentamicina o de tobramicina

producto resultante, el ácido peniciloico, carece de actividad antibacteriana. Sin embargo, contiene un determinante antigénico de penicilina y actúa como hapteno sensibilizante cuando se une a las proteínas portadoras.

Los diferentes radicales (R) unidos al ácido aminopenicilánico determinan las propiedades farmacológicas esenciales del fármaco resultante. Las penicilinas clínicamente importantes caen en cuatro grupos principales. 1) Mayor actividad contra microorganismos grampositivos, espiroquetas y algunos otros, pero susceptibles a hidrólisis por β lactamasas y lábiles a los ácidos (p. ej., penicilina G). 2) Resistencia relativa a las β lactamasas, pero menor actividad contra microorganismos grampositivos e inactivas contra gramnegativos (p. ej., nafcilina). 3) Actividad relativamente grande contra microorganismos grampositivos y gramnegativos pero destruidas por la β lactamasa (p. ej., ampicilina, piperacilina). 4) Estabilidad relativa al áci-

do gástrico y adecuadas para administrar por vía oral (p. ej., penicilina V, cloxacilina, amoxicilina). Algunos fármacos representativos se muestran en la figura 10-1. La mayor parte de las penicilinas se suministran como sales sódicas o potásicas del ácido libre. La penicilina G potásica contiene casi 1.7 mEq de K^+ por millón de unidades (2.8 mEq/g). Las sales procaina y benzatina de la penicilina constituyen presentaciones de depósito para inyección intramuscular. En estado seco las penicilinas son estables, pero en solución pierden rápidamente su actividad y deben prepararse poco antes de su administración.

Actividad antimicrobiana

La etapa inicial en la acción de la penicilina es la unión del fármaco a los receptores celulares. Estos receptores son las

Cuadro 10-2. Fármacos de elección para patógenos microbianos demostrados o sospechados, 1997¹

Agente etiológico demostrado o sospechado	Fármaco(s) de elección	Fármaco(s) alternativos
Cocos gramnegativos <i>Moraxella catarrhalis</i>	TMP-SMZ ² , una fluoroquinolona ³	Cefuroxima, cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, axetil de cefuroxima, una eritromicina, ⁴ una tetraciclina, ⁵ azitromicina, amoxicilina-ácido clavulánico, claritromicina, una fluoroquinolona ³
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (gonococo)	Ceftriaxona, ciprofloxacina u ofloxacina	Espectinomina, proxitel cefpodoxima
<i>Neisseria meningitidis</i> (meningococo)	Penicilina ⁶	Cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, ampicilina, cloranfenicol
Cocos grampositivos <i>Streptococcus pneumoniae</i> ⁷ (neumococos)	Penicilina ⁸	Una eritromicina, ⁴ una cefalosporina, ⁷ vancomicina, TMP-SMZ, ² cloranfenicol, clindamicina, azitromicina, claritromicina, una tetraciclina, ⁵ imipenem, meropenem, quinupristina-dalfopristina, ciertas fluoroquinolonas, ³ linezolid
<i>Streptococcus hemolíticos</i> , grupos A, B, C, G	Penicilina ⁸	Una eritromicina, ⁴ una cefalosporina, ⁷ vancomicina, clindamicina, azitromicina, claritromicina
<i>Streptococcus viridans</i>	Penicilina ⁸ ± gentamicina	Cefalosporina, ⁷ vancomicina
Estafilococos resistentes a la meticilina	Vancomicina ± gentamicina ± rifampicina	TMP-SMZ, ² minociclina, una fluoroquinolona ³ linezolid, quinupristina-dalfopristina
Estafilococos no productores de penicilinasa	Penicilina ⁸	Una cefalosporina, ⁸ vancomicina, imipenem, meropenem, una fluoroquinolona, ³ clindamicina
Estafilococos productores de penicilinasa	Penicilina penicilinasa-resistente ⁹	Vancomicina, una cefalosporina, ⁷ clindamicina, amoxicilina-ácido clavulánico, ticarcilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam, imipenem, meropenem, una fluoroquinolona, ³ TMP-SMZ ²
<i>Enterococcus faecalis</i>	Ampicilina + gentamicina ¹⁰	Vancomicina + gentamicina
<i>Enterococcus faecium</i>	Vancomicina + gentamicina ¹⁰	Quinupristina-dalfopristina, linezolid
Bacilos gramnegativos <i>Acinetobacter</i>	Imipenem o meropenem	Minociclina, TMP-SMZ, ² doxiciclina, aminoglucósidos, ¹¹ piperacilina, ceftazidima, una fluoroquinolona ³
<i>Prevotella</i> , cepas orofaríngeas	Clindamicina	Penicilina, ⁶ metronidazol, cefoxitina, cefotetán
<i>Bacteroides</i> , cepas gastrointestinales	Metronidazol	Cefoxitina, cloranfenicol, clindamicina, cefotetán, imipenem, cefmetazol, meropenem, ticarcilina-ácido clavulánico, ampicilina-sulbactam, piperacilina-tazobactam
<i>Brucella</i>	Tetraciclina + rifampicina ⁵	TMP-SMZ ² ± gentamicina; cloranfenicol, gentamicina; doxiciclina + gentamicina
<i>Campylobacter jejuni</i>	Eritromicina ⁴ o azitromicina	Tetraciclina, ⁵ una fluoroquinolona, ³ gentamicina
<i>Enterobacter</i>	TMP-SMZ, ² imipenem, meropenem	Aminoglucósido, una fluoroquinolona, ³ cefepima
<i>Escherichia coli</i> (sepsis)	Cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima	Imipenem o meropenem, aminoglucósidos, ¹¹ una fluoroquinolona ³

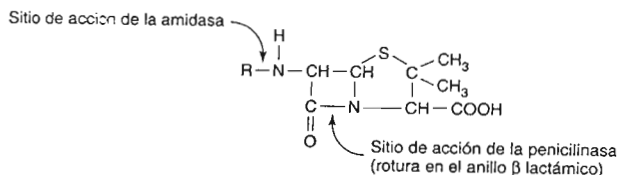
Cuadro 10-2. Fármacos de elección para patógenos microbianos demostrados o sospechados, 1997¹ (continuación)

Agente etiológico demostrado o sospechado	Fármaco(s) de elección	Fármaco(s) alternativos
<i>Escherichia coli</i> (infección urinaria no complicada)	Fluoroquinolonas, ³ nitrofurantoina	TMP-SMZ, ² cefalosporina oral, fosfomicina
<i>Haemophilus</i> (meningitis y otras infecciones serias)	Cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, ceftazidima	Cloranfenicol, meropenem
<i>Haemophilus</i> (infecciones respiratorias, otitis)	TMP-SMZ ²	Ampicilina, amoxicilina, doxiciclina, azitromicina, claritromicina, cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, cefepima, cefuroxima, axetil cefuroxima, ampicilina-clavulanato
<i>Helicobacter pylori</i>	Amoxicilina + claritromicina + omeprazol; o tetraciclina ⁵ + metronidazol + subsalicilato de bismuto	Claritromicina + subsalicilato de bismuto (Pepto-Bismol [®]) - tetraciclina; amoxicilina + metronidazol + subsalicilato de bismuto; amoxicilina + claritromicina
<i>Klebsiella</i>	Una cefalosporina	TMP-SMZ, ² aminoglucósido, ¹¹ imipenem o meropenem, una fluoroquinolona, ³ piperacilina, mezlocilina, aztreonam
Especies de <i>Legionella</i> (neumonía)	Eritromicina ⁴ o claritromicina o azitromicina, o fluoroquinolona ³ ± rifampicina	TMP-SMZ, ² doxiciclina ± rifampina
<i>Proteus mirabilis</i>	Ampicilina	Un aminoglucósido, ¹¹ TMP-SMZ, ² una fluoroquinolona, ³ una cefalosporina ³
<i>Proteus vulgaris</i> y otras especies (morganella, providencia)	Cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima	Aminoglucósido, ¹¹ imipenem, TMP-SMZ, ² una fluoroquinolona ³
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Aminoglucósido ¹¹ + penicilina antipseudomonas ¹²	Ceftazidima ± aminoglucósido; imipenem o meropenem ± aminoglucósido; aztreonam ± aminoglucósido; ciprofloxacina ± piperacilina; ciprofloxacina ± ceftazidima; ciprofloxacina ± cefepima
<i>Burkholderia pseudomallei</i> (melioidosis)	Ceftazidima	Cloranfenicol, tetraciclina, ⁵ TMP-SMZ, ² amoxicilina-ácido clavulánico, imipenem o meropenem
<i>Burkholderia mallei</i> (muermo)	Estreptomina + tetraciclina ⁵	Cloranfenicol + estreptomina
<i>Salmonella</i> (bacteriemia)	Ceftriaxona, una fluoroquinolona ³	TMP-SMZ, ² ampicilina, cloranfenicol
<i>Serratia</i>	Cefotaxima, ceftizoxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefepima	TMP-SMZ, ² aminoglucósidos, ¹¹ imipenem o meropenem, una fluoroquinolona ³
<i>Shigella</i>	Una fluoroquinolona ³	Ampicilina, TMP-SMZ, ² ceftriaxona
<i>Vibrio</i> (cólera, sepsis)	Tetraciclina ⁵	TMP-SMZ, ² una fluoroquinolona ³
<i>Yersinia pestis</i> (peste, tularemia)	Estreptomina ± una tetraciclina ⁵	Cloranfenicol, TMP-SMZ ²
Bacilos grampositivos		
<i>Actinomyces</i>	Penicilina ⁶	Tetraciclina, ⁵ clindamicina
<i>Bacillus</i> (p. ej. ántrax)	Penicilina ⁶ (ciprofloxacina o doxiciclina para ántrax)	Eritromicina ⁴ , tetraciclina, ⁵ una fluoroquinolona ³
<i>Clostridium</i> (p. ej. gangrena gaseosa, tétanos)	Penicilina ⁶	Metronidazol, cloranfenicol, clindamicina, imipenem o meropenem
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Eritromicina ⁴	Penicilina ⁶
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	Vancomicina	Ciprofloxacina, penicilina + gentamicina
<i>Listeria</i>	Ampicilina ± aminoglucósido ¹¹	TMP-SMZ ²
Bacilos fijadores de ácido <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ¹³	INH + rifampicina + pirazinamida ± etambutol o estreptomina	Otros fármacos antituberculosos

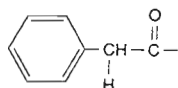
Cuadro 10-2. Fármacos de elección para patógenos microbianos demostrados o sospechados, 1997¹ (continuación)

Agente etiológico demostrado o sospechado	Fármaco(s) de elección	Fármaco(s) alternativos
<i>Mycobacterium leprae</i>	Dapsona + rifampicina ± clofazimina	Minociclina, ofloxacina, claritromicina
<i>Mycobacterium kansasii</i>	INH + rifampicina ± etambutol	Etionamida, cicloserina
Complejo <i>Mycobacterium avium</i>	Claritromicina o azitromicina + uno o más de los siguientes: etambutol, rifampicina o rifabutina, ciprofloxacina	Amikacina
<i>Mycobacterium fortuitum-chelonae</i>	Amikacina + claritromicina	Cefoxitina, sulfonamida, doxiciclina, linezolid
<i>Nocardia</i>	TMP-SMZ ²	Minociclina, imipenem o meropenem, sulfisoxazol, linezolid
Espiroquetas		
<i>Borrelia burgdorferi</i> (enfermedad de Lyme)	Doxiciclina, amoxicilina, axetilo de cefuroxima	Ceftriaxona, cefotaxima, penicilina, azitromicina, claritromicina
<i>Borrelia recurrentis</i> (fiebre recurrente)	Doxiciclina ⁵	Penicilina ⁶
<i>Leptospira</i>	Penicilina ⁶	Doxiciclina ⁵
<i>Treponema pallidum</i> (sífilis)	Penicilina ⁶	Doxiciclina, ceftriaxona
<i>Treponema pertenue</i> (mal de pinto)	Penicilina ⁶	Doxiciclina ⁵
Micoplasmas	Eritromicina ⁴ o doxiciclina ⁵	Claritromicina, azitromicina, una fluoroquinolona ³
Clamidas		
<i>C. psittaci</i>	Doxiciclina	Cloranfenicol
<i>C. trachomatis</i> (uretritis o enfermedad pélvica inflamatoria)	Doxiciclina o azitromicina	Ofloxacina
<i>C. pneumoniae</i>	Doxiciclina	Eritromicina, ⁴ claritromicina, azitromicina, una fluoroquinolona ^{3,14}
Rickettsias	Doxiciclina	Cloranfenicol, una fluoroquinolona ³

¹ Adaptado de Med Lett Drugs Ther 2001;43:69.² TMP-SMZ es una mezcla constituida por una parte de trimetoprim y cinco partes de sulfametoxazol.³ Las fluoroquinolonas incluyen ciprofloxacina, ofloxacina, y otras (véase el texto). Gatifloxacina, levofloxacina y moxifloxacina muestran la mejor actividad contra organismos grampositivos, incluyendo *S. pneumoniae* resistente a la penicilina y *S. aureus* sensible a meticilina. Su actividad contra enterococos y *S. epidermidis* es variable. Ciprofloxacina muestra la mejor actividad contra *P. aeruginosa*.⁴ El estolato de eritromicina se absorbe mejor por vía oral, pero implica un riesgo mayor para hepatitis; también se encuentran disponibles el estearato de eritromicina y el etilsuccinato de eritromicina.⁵ Todas las tetraciclinas poseen una actividad similar en contra de los microorganismos susceptibles. Minociclina y doxiciclina muestran una mayor actividad contra *S. aureus*. La dosis se determina por los índices de absorción y excreción de las diversas preparaciones.⁶ Para administración parenteral se prefiere a la penicilina G; para administración oral la penicilina V debe utilizarse únicamente para tratar infecciones causadas por organismos altamente sensibles a estos compuestos.⁷ La mayoría de las cefalosporinas intravenosas (excepto ceftazidima) muestra buena actividad contra cocos grampositivos.⁸ Se ha descrito ya resistencia intermedia y de alto nivel a la penicilina. Las infecciones causadas por cepas con resistencia intermedia pueden responder a altas dosis de penicilina, cefotaxima o ceftriaxona. Las infecciones causadas por cepas altamente resistentes se deben tratar con vancomicina con o sin rifampicina. Muchas cepas de neumococos resistentes a penicilina son resistentes a eritromicina, macrólidos, TMP-SMZ y cloranfenicol.⁹ Oxacilina o nafcilina parenteral; dicloxacilina, cloxacilina u oxacilina orales.¹⁰ La adición de gentamicina se indica sólo en infecciones enterocócicas graves (p. ej. endocarditis, meningitis).¹¹ Aminoglucósidos-gentamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina: se deben elegir con base en los patrones de susceptibilidad locales.¹² Penicilinas antipseudomonas: ticarcilina, mezlocilina, piperacilina.¹³ Puede llegar a presentarse resistencia, por lo que se deben realizar pruebas de susceptibilidad.¹⁴ La ciprofloxacina tiene actividad anticlamidial inferior en comparación con las fluoroquinolonas más recientes.

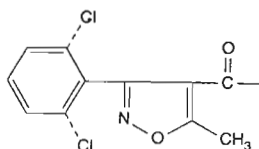


Cada una de las siguientes estructuras puede ser sustituida al sitio R para producir una nueva penicilina.



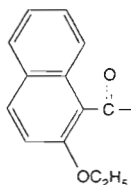
Penicilina G (benzilpenicilina):

Gran actividad contra bacterias grampositivas. Actividad escasa contra bacterias gramnegativas. Ácido lábil. Destruída por β lactamasa. 60% unida a proteínas



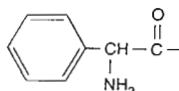
Oxacilina (sin átomos de Cl): cloxacilina (un Cl en la estructura); dicloxacilina (2 Cl en la estructura); flucloxacilina (un Cl y un F en la estructura) (isoxazolil penicilinas):

Similar a meticilina en la resistencia a β lactamasa, pero estable en medio ácido. Se puede administrar por vía oral. Muy unida a proteína (95 a 98%).



Nafcilina (etoxinaftamidopenicilina):

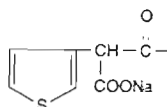
Similar a las isoxazolil penicilinas. Menos fuertemente unida a proteínas (90%). Se puede administrar por vía oral o IV. Resistente a la β lactamasa del estafilococo.



Ampicilina (α aminobenzilpenicilina):

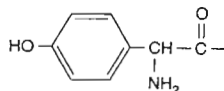
Similar a la penicilina G (destruida por β -lactamasa) pero estable en medio ácido y más activa contra bacterias gramnegativas.

La carbenicilina tiene $-\text{COONa}$ en lugar del grupo $-\text{NH}_2$.



Ticarcilina:

Similar a la carbenicilina, pero proporciona mayores concentraciones sanguíneas. Piperacilina, azlocilina y mezlocilina semejan las acciones de la ticarcilina contra los aeróbicos gramnegativos.



Amoxicilina:

Similar a la ampicilina pero mejor absorbida suministra concentraciones sanguíneas mayores.

Figura 10-1. Estructuras de algunas penicilinas.

PBP's, al menos algunas de ellas son enzimas implicadas en las reacciones de transpeptidación. Pueden existir de 3 a 6 (o más) PBP's. Una vez unida la molécula de la penicilina a los receptores, se inhibe la síntesis de peptidoglucanos conforme se bloquea la transpeptidación. Un evento bactericida final es retirar o inactivar un inhibidor de las enzimas autolíticas en la pared celular. Esto activa las enzimas autolíticas y causa lisis de la célula. Los microorganismos con función defi-

ciente de autolisina se inhiben, pero los fármacos β lactámicos no los matan, y se dice que se hacen "tolerantes".

Puesto que la acción de la penicilina requiere la síntesis activa de la pared celular, los microorganismos metabólicamente inactivos no son susceptibles a estos fármacos.

La penicilina G y la penicilina V con frecuencia se cuantifican en unidades (1 millón de unidades = 0.6 g), pero las penicilinas semisintéticas se miden en gramos. En tanto

que 0.002 a 1 µg/mL de penicilina G es mortal para la mayor parte de los microorganismos grampositivos susceptibles, se requiere de 10 a 100 veces más para matar las bacterias gramnegativas (excepto *Neisseriae*).

Resistencia

La resistencia a la penicilina se clasifica en varias categorías: 1) Producción de β lactamasas por estafilococos, bacterias gramnegativas, *Haemophilus*, gonococos y otros. Se conocen más de 50 β lactamasas diferentes, la mayor parte producidas bajo el control de plásmidos bacterianos. Las cefalosporinas más recientes pueden inducir la β lactamasa. 2) Ausencia de receptores para la penicilina (PBP) o PBP alterados (p. ej., neumococos, enterococos) o inaccesibilidad de los receptores debido a barreras de permeabilidad de las membranas bacterianas externas. Éstas con frecuencia están bajo control cromosómico. 3) Falta de activación de las enzimas autolíticas en la pared celular, lo que puede inhibir a la bacteria sin matarla (p. ej., tolerancia de algunos estafilococos). 4) Falta de síntesis de peptidoglicanos, por ejemplo, micoplasmas, formas L, o bacterias metabólicamente inactivas.

Absorción, distribución y excreción

Después de la administración intramuscular o intravenosa, la absorción de la mayor parte de las penicilinas es rápida y completa. Luego de la administración oral sólo se absorbe 5 a 30% de la dosis de casi todas las penicilinas, según su estabilidad en ácido, enlace a los alimentos, presencia de amortiguadores, etc. La amoxicilina se absorbe bien. Después de la absorción las penicilinas se distribuyen ampliamente en los tejidos y en los líquidos corporales.

Se han diseñado presentaciones farmacéuticas especiales de absorción prolongada para producir concentraciones útiles del fármaco durante periodos prolongados. Después de una sola dosis intramuscular de penicilina benzatínica, 1.5 g (2.4 millones de unidades), se mantienen concentraciones séricas de 0.03 unidades/mL durante 10 días y concentraciones de 0.005 unidades/mL durante tres semanas. La penicilina procainica administrada por vía intramuscular produce concentraciones terapéuticas durante 24 h.

En muchos tejidos la concentración de la penicilina es similar a la concentración en el suero. Las concentraciones menores se presentan en los ojos, la próstata y el sistema nervioso central. Sin embargo, en la meningitis la penetración es mayor y en el líquido cefalorraquídeo pueden observarse concentraciones de 0.5 a 5 µg/mL con una dosis parenteral diaria de 12 g. Por tanto, las meningitis meningocócica y neumocócica se tratan con penicilina sistémica y se ha abandonado la inyección intratecal.

La mayor parte de las penicilinas se excretan con rapidez por los riñones. Casi 10% de la excreción renal tiene lugar por filtración glomerular y 90% por secreción tubular. Esta última puede bloquearse parcialmente con probenecid para alcanzar mayores concentraciones sistémicas y en el líquido cefalorraquídeo. En el recién nacido y en las personas con insuficiencia renal la excreción de penicilina se reduce y las concentraciones sistémicas permanecen elevadas

durante más tiempo. Algunas penicilinas (p. ej., nafcilina) se eliminan principalmente por mecanismos no renales.

Usos clínicos

Las penicilinas son los antibióticos usados más ampliamente, sobre todo en las áreas siguientes.

La penicilina G es el fármaco de elección en la mayor parte de las infecciones causadas por estreptococos, neumococos, meningococos, espiroquetas, clostridios, bacilos aeróbicos grampositivos, estafilococos y gonococos no productores de penicilinas y actinomicetos.

La penicilina G es inhibidora de los enterococos (*S. faecalis*), y para lograr efectos bactericidas (p. ej., en la endocarditis por enterococos) se debe añadir un aminoglucósido. En dosis comunes, la penicilina G se excreta por la orina en concentración lo bastante grande para inhibir algunos microorganismos gramnegativos, a menos que produzcan gran cantidad de β lactamasa.

La penicilina G benzatínica es una sal muy poco soluble administrada por vía intramuscular para alcanzar concentraciones bajas, pero prolongadas del fármaco. Una sola inyección de 1.2 millones de unidades (0.7 g) es un tratamiento satisfactorio para la faringitis por estreptococo del grupo A y para la sífilis primaria. La misma inyección una vez cada 3 a 4 semanas tiene acción profiláctica satisfactoria contra la reinfección con estreptococos del grupo A en los pacientes reumáticos.

La infección con estafilococos productores de β lactamasa es la única indicación para el empleo de penicilinas resistentes a la β lactamasa, o sea, nafcilina u oxacilina. Para las infecciones más leves por estafilococos pueden administrarse cloxacilina o dicloxacilina por vía oral. Los estafilococos resistentes a oxacilina y nafcilina poseen el gen *mecA* y producen una proteína fijadora de penicilina de baja afinidad.

La amoxicilina se absorbe mejor por vía oral en comparación con la ampicilina y produce concentraciones mayores. La amoxicilina administrada junto con ácido clavulánico es activa contra el *H. influenzae* productor de β lactamasa. La ticarcilina se asemeja a la ampicilina, pero es más activa contra los bacilos gramnegativos. Habitualmente se administra en la septicemia por gramnegativos, junto con un aminoglucósido (p. ej., gentamicina). La piperacilina es más eficaz contra los bacilos aeróbicos gramnegativos, en especial las pseudomonas. La piperacilina combinada con el inhibidor de β lactamasa tazobactam incrementa la actividad en contra de algunos bastones gramnegativos productores de β lactamasa. La combinación piperacilina-tazobactam, sin embargo, no es más activa contra *Paeruginosa* que la piperacilina sola.

Efectos adversos

Las penicilinas muestran toxicidad menos directa que la mayor parte de los otros antimicrobianos. Los efectos adversos más graves se deben a la hipersensibilización.

Todas las penicilinas muestran sensibilización cruzada y reacciones cruzadas. Cualquier material (incluso leche, cosméticos) que contenga penicilina puede inducir la sensibiliza-

ción. La
ción (p.
ped. Me
product
dada, se
Entre qu
incidenci
de. Estas
a las célu
y no se a
raros de
penicilina
administr
co sustitu
Las
que anaf
(urticaria
tico, prur
dosis de p
nofilia, va
lidad a la
ser de 1 a
agudas po
veces, los
nes alérgi
Las c
nes irritan
con insufi
ducir enco
puede ocu
nes la nafa
les a veces
han relacio
nas ya son
na muy a
comúnmen
cual puede

CEFAL

Algunos h
microbiana
β lactámico
co (figura
las penicili
vidad antibi
rales R ge
farmacológ
bles. Las ce
se derivan d
El me
go al de las
bacterias qu
ción de la sí
dación de lo
autolíticas e
mortales par
se puede atri
fármaco: 2)

ción. Los antígenos causantes son productos de la degradación (p. ej., ácido peniciloico) unidos a las proteínas del huésped. Mediante pruebas cutáneas con peniciloil-polisilina, con productos de la hidrólisis alcalina, y con penicilina no degradada, se puede identificar a muchas personas hipersensibles. Entre quienes dan reacción positiva a las pruebas cutáneas la incidencia de reacciones alérgicas mayores inmediatas es grande. Estas reacciones se relacionan con anticuerpos IgE unidos a las células. Los anticuerpos IgG a la penicilina son comunes y no se asocian con reacciones alérgicas más que en casos raros de anemia hemolítica. Un antecedente de reacción a la penicilina en el pasado no es confiable, pero el fármaco debe administrarse con cautela a estas personas, o elegir un fármaco sustituto.

Las reacciones alérgicas pueden presentarse como choque anafiláctico clásico, reacción tipo enfermedad del suero (urticaria, inflamación de articulaciones, edema angioneurótico, prurito, dificultad respiratoria 7 a 12 días después de la dosis de penicilina), y erupción cutánea, fiebre, nefritis, eosinofilia, vasculitis, etc. En EUA la incidencia de hipersensibilidad a la penicilina es insignificante en los niños, pero puede ser de 1 a 5% en los adultos. Las reacciones anafilácticas agudas potencialmente mortales son muy raras (0.5%). A veces, los corticosteroides pueden suprimir las manifestaciones alérgicas a las penicilinas.

Las dosis muy grandes pueden producir concentraciones irritantes en el sistema nervioso central. En los pacientes con insuficiencia renal las dosis más pequeñas pueden producir encefalopatía, delirio y convulsiones. Con estas dosis puede ocurrir toxicidad directa por el catión (K^+). En ocasiones la nafcilina causa granulocitopenia. Las penicilinas orales a veces causan diarrea. Las dosis grandes de penicilina se han relacionado con tendencia al sangrado. Algunas penicilinas ya son obsoletas debido a su gran toxicidad. La metilicina muy a menudo causa nefritis intersticial; la carbenicilina comúnmente disminuye la agregación plaquetaria normal, lo cual puede llevar a un sangrado clínicamente significativo.

CEFALOSPORINAS

Algunos hongos *Cephalosporium* producen sustancias antimicrobianas denominadas cefalosporinas. Son compuestos β lactámicos con un núcleo de ácido 7-aminocefalosporánico (figura 10-2) en lugar del ácido 6-aminopenicilánico de las penicilinas. Las cefalosporinas naturales tienen poca actividad antibacteriana, pero la unión de diferentes grupos laterales R generó muchos medicamentos con propiedades farmacológicas, espectro y actividad antimicrobiana variables. Las cefamicinas son similares a las cefalosporinas, pero se derivan de actinomicetos.

El mecanismo de acción de las cefalosporinas es análogo al de las penicilinas: 1) unión a PBP específicas sobre las bacterias que sirven como receptores del fármaco; 2) inhibición de la síntesis de la pared celular al impedir la transpeptidación de los peptidoglucanos; y 3) activación de las enzimas autolíticas en la pared celular que pueden provocar lesiones mortales para la bacteria. La resistencia a las cefalosporinas se puede atribuir a: 1) escasa permeación de la bacteria por el fármaco; 2) falta de una PBP para un fármaco específico; y

3) degradación del fármaco por las β lactamasas, muchas de las cuales existen. Ciertas cefalosporinas de segunda y tercera generación pueden inducir β lactamasas especiales en las bacterias gramnegativas. Sin embargo, en general, las cefalosporinas tienden a ser resistentes a las β lactamasas producidas por los estafilococos y las bacterias gramnegativas comunes que hidrolizan e inactivan muchas penicilinas.

Para referirse con facilidad a las cefalosporinas se les clasifica en grupos principales, o "generaciones", analizadas más adelante (cuadro 10-3). Muchas cefalosporinas se excretan principalmente por el riñón y en caso de insuficiencia renal pueden acumularse e inducir toxicidad.

Cefalosporinas de primera generación

Las cefalosporinas de primera generación son muy activas contra cocos grampositivos, excepto enterococos y estafilococos resistentes a la nafcilina, y moderadamente activas contra algunos bacilos gramnegativos, en particular *E. coli*, proteus y klebsiela. Los cocos anaeróbicos con frecuencia son susceptibles, pero los *Bacteroides fragilis* no lo son.

La cefalexina, la cefradina y el cefadroxilo se absorben del intestino en grado variable y pueden emplearse para el tratamiento de las infecciones de los aparatos urinario y respiratorio. Otras cefalosporinas de primera generación deben inyectarse para lograr concentraciones adecuadas en la sangre y los tejidos. Para profilaxis quirúrgica se prefiere la cefazolina, debido a que proporciona las concentraciones mayores (90 a 120 $\mu\text{g/mL}$) con dosis cada 8 h. La cefalotina y la cefapirina en la misma dosis suministran concentraciones menores. Ninguno de los fármacos de la primera generación penetra al sistema nervioso central y no son fármacos de primera línea en la terapia contra infecciones.

Cefalosporinas de segunda generación

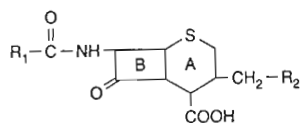
Las cefalosporinas de segunda generación son un grupo heterogéneo. Todas son activas contra microorganismos susceptibles a fármacos de la primera generación, pero tienen mayor cobertura contra bacilos gramnegativos, incluso klebsiela y proteus, aunque no para *P. aeruginosa*.

Algunas cefalosporinas de segunda generación (no todas) se pueden emplear por vía oral para tratar sinusitis y otitis causadas por *Haemophilus influenzae*, incluso cepas productoras de β lactamasas.

Cefoxitil y cefotetan son particularmente activas contra *B. fragilis* y por tanto se emplean en infecciones mixtas por anaeróbicos, incluso peritonitis y la enfermedad inflamatoria pélvica.

Cefalosporinas de tercera generación

Las cefalosporinas de tercera generación muestran menor actividad contra los cocos grampositivos; cuando se emplean estas cefalosporinas para combatir enterococos casi siempre se produce superinfección. La mayor parte de las cefalosporinas de tercera generación son activas contra los estafilococos, pero la ceftazidima sólo es débilmente acti-



Núcleo del ácido 7-aminocefalosporánico. Las siguientes estructuras pueden ser sustituidas cada una en R_1 y R_2 para producir los derivados aquí nombrados.

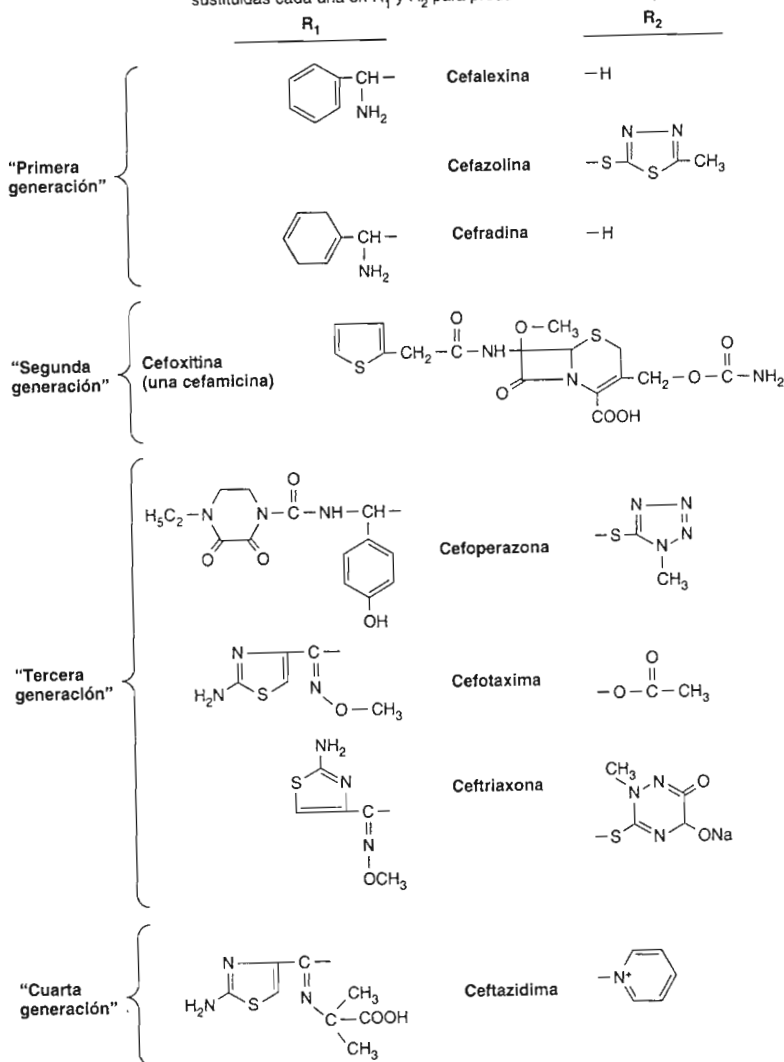


Figura 10-2. Estructuras de algunas cefalosporinas.

Cuadro 10-3. Principales grupos de cefalosporinas

Primera generación	Segunda generación	Tercera generación	Cuarta generación
Cefalotina	Cefamandol	Cefotaxima	Cefepima
Cefapirina	Cefuroxima	Ceftizoxima	
Cefazolina	Cefonicida	Ceftriaxona	
Cefalexina ¹	Ceforanida	Ceftazidima	
Cefradina ¹	Cefaclor ¹	Cefoperazona	
Cefadroxilo	Cefoxitin	Cefixima ¹	
	Cefotetan	Cefpodoxima proxetil ¹	
	Cefprozil ¹	Ceftibuten ¹	
	Cefuroxima axetil ¹	Cefdinir ¹	
	Cefmetazol		

¹ Agente oral.

va. Una gran ventaja de los fármacos de tercera generación es su mayor actividad contra los bacilos gramnegativos. En tanto que los fármacos de segunda generación tienden a fracasar contra la *P. aeruginosa*, pueden tener éxito la ceftazidima o la cefoperazona. Así, los fármacos de tercera generación son muy útiles en el tratamiento de la bacteriemia por gramnegativos contraída en el hospital. En los pacientes inmunodeficientes, estos fármacos casi siempre se combinan con un aminoglucósido. La ceftazidima también puede salvar la vida del paciente en melioidosis grave (infección por *Burkholderia pseudomallei*).

Otra característica distintiva importante de varios fármacos de la tercera generación, excepto la cefoperazona, es su capacidad de ingresar al sistema nervioso central y aparecer en el líquido cefalorraquídeo en concentración suficiente para tratar la meningitis causada por los bacilos gramnegativos. La cefotaxima, la ceftriaxona o la ceftizoxima, administradas por vía intravenosa, son los fármacos preferidos para el tratamiento de la septicemia y la meningitis por bacterias gramnegativas.

ran las cefalosporinas, pero aquéllos con antecedentes de anafilaxia no las toleran.

Después de la inyección intravenosa puede ocurrir tromboflebitis. La hipoprotrombinemia es frecuente con las cefalosporinas que poseen un grupo metiltiotetrazol (p. ej., cefamandol, cefmetazol, cefotetan, cefoperazona). La administración por vía oral de vitamina K (10 mg) dos veces a la semana puede evitar esta complicación. Estos mismos fármacos también pueden causar reacciones graves tipo disulfiram y debe evitarse la ingestión de bebidas alcohólicas.

Puesto que muchas cefalosporinas de segunda, tercera y cuarta generación muestran poca actividad contra los microorganismos grampositivos, en particular los enterococos, puede aparecer superinfección con estos microorganismos y con hongos.

OTROS FÁRMACOS β LACTÁMICOS

Monobactams

Los monobactams poseen un anillo β lactámico monocíclico y son resistentes a la β lactamasa. Son activos contra los bacilos gramnegativos, pero no contra las bacterias grampositivas o los anaeróbicos. El primero de estos fármacos disponibles fue el aztreonam, cuya actividad recuerda la de los aminoglucósidos y se administra por vía intravenosa o intramuscular cada 8 o 12 h. Los pacientes con alergia a la penicilina mediada por IgE los toleran sin reacción y, salvo erupciones cutáneas y trastornos menores de la aminotransferasa, no se ha informado toxicidad mayor. Pueden aparecer superinfecciones con estafilococos y enterococos.

Carbapenems

Son fármacos estructuralmente relacionados con los antibióticos β lactámicos. El imipenem, el primer fármaco de este tipo, muestra buena actividad contra muchos bacilos gramnegativos, microorganismos grampositivos y anaeróbicos. Es resistente a las β lactamasas, pero se inactiva por las dihidro-

Cefalosporinas de cuarta generación

La cefepima es la única cefalosporina de cuarta generación con aplicación clínica actual en E.U.A. Muestra una mayor actividad contra especies enterobacter y citrobacter que son resistentes a cefalosporinas de tercera generación. La cefepima muestra actividad comparable a la de ceftazidima contra la *P. aeruginosa*. La actividad contra los estreptococos y los estafilococos susceptibles a la nafcilina es mayor que la de ceftazidima y comparable a la de otros compuestos de tercera generación. La cefpiroma es una cefalosporina de cuarta generación disponible fuera de E.U.A.

Efectos adversos de las cefalosporinas

Las cefalosporinas son sensibilizantes y pueden producir varias reacciones de hipersensibilidad, las cuales incluyen anafilaxia, fiebre, erupciones cutáneas, nefritis, granulocitopenia y anemia hemolítica. La frecuencia de alergia cruzada entre cefalosporinas y penicilinas es de casi 5%. Los pacientes con alergia menor a la penicilina, en general tole-

peptidasas en los túbulos renales. Por consiguiente, se administra junto con un inhibidor de la peptidasa, la cilastatina.

El imipenem penetra a los tejidos y líquidos del cuerpo de manera satisfactoria, incluso al líquido cefalorraquídeo. Se administra por vía intravenosa cada 6 a 8 h y en dosis menor cuando hay insuficiencia renal. El imipenem puede estar indicado para las infecciones causadas por microorganismos resistentes a otros fármacos. Las especies de *Pseudomonas* desarrollan con rapidez resistencia y se requiere el empleo concomitante de un aminoglucósido; sin embargo, esto no retarda el desarrollo de la resistencia. Esta combinación puede ser un tratamiento eficaz para los pacientes neutropénicos febriles.

Los efectos adversos del imipenem incluyen vómitos, diarrea, erupción cutánea y reacciones en el sitio de la administración intravenosa. La concentración excesiva en los pacientes con insuficiencia renal puede provocar crisis convulsivas. Los pacientes alérgicos a las penicilinas a veces también son alérgicos al imipenem.

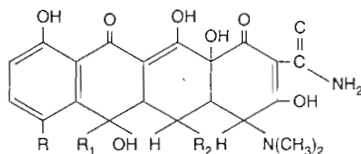
El meropenem es similar al imipenem en su farmacología y actividad antimicrobiana. Sin embargo, no se inactiva por las dipeptidasas y es menos probable que cause convulsiones en comparación con el imipenem.

TETRACICLINAS

Las tetraciclinas son un grupo de antibióticos que difieren en sus características físicas y farmacológicas, pero poseen propiedades antimicrobianas prácticamente idénticas y muestran resistencia cruzada completa. Todas las tetraciclinas se absorben con facilidad en el intestino y se distribuyen ampliamente en los tejidos, pero penetran poco al líquido cefalorraquídeo. Algunas también se pueden administrar por vía intramuscular o intravenosa. Se excretan con diferente tasa en heces, bilis y orina. Con dosis de clorhidrato de tetraciclina de 2 g/d por vía oral, las concentraciones sanguíneas alcanzan 8 µg/mL. La minociclina y la doxiciclina se excretan con mayor lentitud y por tanto se administran a intervalos más prolongados.

Las tetraciclinas poseen la estructura básica mostrada a continuación. Los radicales siguientes aparecen en formas diferentes:

	R	R ₁	R ₂	Depuración renal (mL/min)
Tetraciclina	-H	-CH ₃	-H	65
Doxiciclina	-H	-CH ₃	-OH	16
Minociclina	-N(CH ₃) ₂	-H	-H	< 10



Actividad antimicrobiana

Las tetraciclinas se concentran en el interior de las bacterias susceptibles e inhiben la síntesis de proteínas al inhibir el acoplamiento del aminoacil-tRNA a la unidad 30S de los ribosomas bacterianos. Las bacterias resistentes no concentran el fármaco. Esta resistencia se encuentra bajo el control de plásmidos transmisibles.

Las tetraciclinas son agentes principalmente bacteriostáticos. Inhiben el crecimiento de las bacterias susceptibles grampositivas y gramnegativas (inhibidas por 0.1 a 10 µg/mL) y son los fármacos de elección en las infecciones causadas por rickettsias, clamidias y *Mycoplasma pneumoniae*. Las tetraciclinas se emplean en el cólera para acortar la etapa de excreción de vibrones. El clorhidrato de tetraciclina o de doxiciclina por vía oral durante siete días es eficaz contra la infección genital por clamidias. A veces las tetraciclinas se emplean en combinación con la estreptomina para tratar infecciones por brucela, yersinia y francisela. La minociclina casi siempre es activa contra la nocardia y puede erradicar el meningococo de los portadores. En caso de acné se administra dosis baja de tetraciclina durante muchos meses para suprimir tanto las bacterias de la piel como sus lipasas que promueven los cambios inflamatorios.

Las tetraciclinas no inhiben los hongos. Suprimen de manera transitoria parte de la flora normal del intestino, pero pueden aparecer superinfecciones, en particular con *Pseudomonas*, *Proteus*, estafilococos y levaduras, resistentes a la tetraciclina.

Efectos adversos

Las tetraciclinas producen molestias gastrointestinales de grado variable (náuseas, vómito, diarrea), erupciones cutáneas, lesiones de la mucosa y fiebre en muchos pacientes, en particular cuando la administración es prolongada y la dosis elevada. Es común la sustitución de la flora bacteriana (véase antes). El crecimiento excesivo de hongos en las mucosas anal y vaginal durante la administración de la tetraciclina causa inflamación y prurito. El desarrollo excesivo de microorganismos en el intestino puede producir enterocolitis.

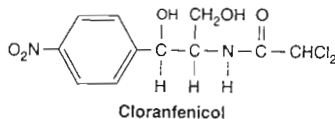
Las tetraciclinas se depositan en las estructuras óseas y en los dientes, particularmente en el feto y durante los primeros seis años de vida. Cuando se administran tetraciclinas durante periodos prolongados a una mujer embarazada se observan alteraciones de color y fluorescencia de los dientes en el recién nacido. También puede presentarse daño hepático. La minociclina puede producir trastornos vestibulares notables.

Examen bacteriológico

La eficacia antimicrobiana de las tetraciclinas es prácticamente idéntica, de modo que en las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos sólo se debe incluir una tetraciclina estable. La resistencia cruzada de los microorganismos a las tetraciclinas es amplia; un microorganismo resistente a uno de los fármacos también puede mostrar resistencia a los otros.

CLORANFENICOL

El cloranfenicol es una sustancia obtenida originalmente de cultivos de *Streptomyces venezuelae*, pero en la actualidad se elabora por vía de síntesis.



El cloranfenicol cristalino es un compuesto estable absorbido con rapidez del aparato gastrointestinal y distribuido ampliamente en los tejidos y líquidos corporales, incluso el sistema nervioso central y el líquido cefalorraquídeo; penetra bien en las células. La mayor parte del fármaco se inactiva en el hígado por conjugación con ácido glucurónico o por reducción a arilaminas inactivas. La excreción tiene lugar sobre todo por la orina, 90% en forma inactiva. Aunque el cloranfenicol generalmente se administra por vía oral, la sal succinato puede inyectarse por vía intravenosa en dosis similares.

El cloranfenicol es un inhibidor potente de la síntesis de las proteínas en los microorganismos. Impide la unión de aminoácidos a la cadena nascente de péptidos sobre la unidad 50S del ribosoma al interferir con la acción de la peptidiltransferasa. Es principalmente bacteriostático, y su espectro, dosis y concentración sanguínea son similares a los de la tetraciclina. Se emplea para tratar muchos tipos de infección (p. ej., causada por salmonela, meningococos, *H. influenzae*) pero actualmente no es el fármaco de elección para ninguna infección.

La resistencia al cloranfenicol se debe a la destrucción del fármaco por una enzima (cloranfenicol acetiltransferasa) codificada por plásmidos.

Con poca frecuencia el cloranfenicol causa molestias gastrointestinales. Sin embargo, la administración de más de 3 g/d induce regularmente trastornos en la maduración de los eritrocitos, elevación del hierro sérico y anemia. Estos cambios son reversibles al interrumpir la administración del fármaco. Muy raras veces las personas presentan idiosincrasia aparente a cloranfenicol y desarrollan anemia aplásica grave o mortal, que es distinta de los efectos reversibles descritos antes. Por esta razón, el uso de cloranfenicol en general se restringe a infecciones donde claramente es el fármaco más eficaz según las pruebas de laboratorio o la experiencia.

En el lactante prematuro y en el recién nacido el cloranfenicol puede inducir colapso ("síndrome gris"), debido a que el mecanismo normal de detoxificación (conjugación con glucuronato en el hígado) aún no se ha desarrollado.

ERITROMICINAS

La eritromicina se obtiene del *Streptomyces erythraeus* y tiene la fórmula química $C_{37}H_{67}NO_{13}$. Los fármacos relacionados con la eritromicina son la claritromicina, la azitromicina y

otros. La eritromicina se une a un receptor (rRNA en 23S) sobre la subunidad 50S del ribosoma bacteriano. Inhibe la síntesis de las proteínas porque interfiere con las reacciones de translocación y con la formación de los complejos de inicio ribosomales. Una alteración (metilación) del receptor rRNA produce resistencia a la eritromicina. Esto se encuentra codificado por plásmido transmisible. La actividad de las eritromicinas aumenta notablemente en pH alcalino.

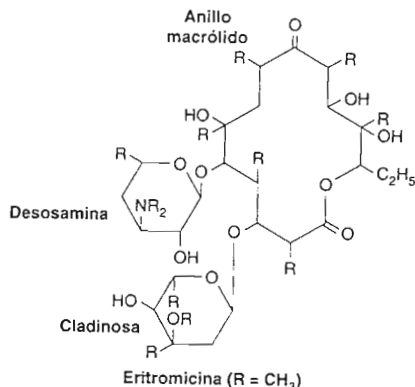
Las eritromicinas en concentraciones de 0.1 a 2 µg/mL son activas contra bacterias grampositivas, incluso neumococos, estreptococos y corinebacterias. El *Mycoplasma pneumoniae*, la *Chlamydia trachomatis*, la *Legionella pneumophila* y el *Campylobacter jejuni* también son susceptibles. En las poblaciones microbianas susceptibles pueden aparecer variantes resistentes que tienden a surgir durante el tratamiento, sobre todo en las infecciones estafilocócicas.

Las eritromicinas pueden ser los fármacos preferidos en las infecciones causadas por los microorganismos enumerados antes y sustituir a la penicilina en las personas hipersensibles a ésta. El estearato, el succinato, o el estolato de eritromicina, administrados por vía oral cuatro veces al día, producen concentraciones séricas de 0.5 a 2 µg/mL. Otras presentaciones se administran por vía intravenosa.

Los efectos adversos son fiebre medicamentosa, molestias gastrointestinales leves y hepatitis colestática como reacción de hipersensibilidad, en especial al estolato. Durante el embarazo puede aumentar la hepatotoxicidad. La eritromicina tiende a aumentar la concentración de los anticoagulantes, de la ciclosporina y de otros medicamentos al reprimir las enzimas microsómicas, cuando se administran de manera simultánea.

La diritromicina es un macrólido con una variedad de actividad antimicrobiana similar a la de la eritromicina. La vida media de la diritromicina en suero es más prolongada y se administra una vez al día.

La claritromicina y la azitromicina son azálidos relacionados químicamente con la eritromicina. Igual que la eritromicina, éstas son activas contra los estafilococos y los estreptococos. La claritromicina muestra mayor actividad contra *Legionella pneumophila*, *Helicobacter pylori*, *Moraxella catarrhalis*, *Chlamydia trachomatis* y *Borrelia burgdorferi*.



feri. La azitromicina muestra mayor actividad contra *Campylobacter jejuni*, *Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Borrelia burgdorferi*. Ambos fármacos son activos contra el complejo *Mycobacterium avium*, y los dos inhiben la mayor parte de las cepas del *Mycobacterium chelonae* y del *Mycobacterium fortuitum*. Las bacterias resistentes a la eritromicina también lo son a la claritromicina y a la azitromicina. Las modificaciones químicas de la claritromicina y de la azitromicina evitan su metabolismo hacia formas inactivas, y estos fármacos se administran dos veces al día (claritromicina) o una vez al día (azitromicina). Ambos se relacionan con incidencia mucho menor de efectos adversos gastrointestinales en comparación con la eritromicina.

CLINDAMICINA Y LINCOMICINA

La lincomicina (derivada del *Streptomyces lincolnensis*) y la clindamicina (un derivado cloro-sustituido) se asemejan a las eritromicinas en su modo de acción, espectro antibacteriano y sitio receptor ribosómico, pero son químicamente distintas. La clindamicina es muy activa contra bacteroides y otros anaeróbicos.

Estos fármacos son estables en medio ácido y se pueden administrar por vía oral o intravenosa. Se distribuyen ampliamente en los tejidos, excepto en el sistema nervioso central. La excreción tiene lugar principalmente a través del hígado, la bilis y la orina.

Tal vez la indicación más importante de la clindamicina intravenosa es el tratamiento de la infección grave por anaeróbicos, incluso la causada por *B. fragilis*. Se ha observado el tratamiento satisfactorio de las infecciones estafilocócicas del hueso con la lincomicina. Las lincomicinas no deben usarse en la meningitis. La clindamicina ha sobresalido en la colitis relacionada con antibióticos y causada por *C. difficile*; sin embargo, casi todos los antimicrobianos se han asociado con colitis por *C. difficile*.

GLUCOPÉPTIDOS

1. VANCOMICINA

La vancomicina (PM 1450) es producida por el *Streptomyces orientalis*. Se absorbe poco del intestino.

La vancomicina es notablemente bactericida para los estafilococos, algunos clostridios y ciertos bacilos. El fármaco inhibe las etapas iniciales de la síntesis de los peptidoglucanos en la pared celular. Las cepas resistentes al fármaco no surgen con rapidez. La vancomicina se administra por vía intravenosa para las infecciones sistémicas graves por estafilococo, incluso en la endocarditis, y en especial si hay resistencia a la nafcilina. Para la septicemia o la endocarditis por enterococos, la vancomicina puede ser eficaz si se combina con una penicilina. La vancomicina oral está indicada en la colitis pseudomembranosa relacionada con antibióticos (véase clindamicina).

El desarrollo de resistencia a la vancomicina en los enterococos ha tenido un gran impacto sobre el tratamiento de las infecciones enterocócicas graves resistentes a múltiples

fármacos. Véase la sección acerca de las implicaciones clínicas de la resistencia a los fármacos antes en este capítulo y en el capítulo 15.

En pacientes de diferentes países, incluyendo EUA, se ha aislado *in vitro* *Staphylococcus aureus* de susceptibilidad intermedia a la vancomicina. Estos pacientes presentaban enfermedades complicadas que incluían esquemas terapéuticos a largo plazo con vancomicina. En algunos casos, las infecciones parecieron no sucumbir al tratamiento con vancomicina.

La posibilidad de resistencia a vancomicina de alto nivel en *S. aureus* es de principal interés internacional. El mecanismo sería el mismo o similar a la resistencia a vancomicina mediada por transposón en los enterococos (véase el capítulo 15). Éste, aislado, se ha cultivado de por lo menos un paciente y podría presentarse en más pacientes en el futuro.

Los efectos adversos son tromboflebitis, erupciones cutáneas, sordera nerviosa, y tal vez daño renal cuando se usa en combinación con un aminoglucósido.

2. TEICOPLANINA

La teicoplanina tiene una estructura similar a la de la vancomicina. Es activa contra estafilococos (incluso cepas resistentes a la nafcilina), estreptococos, enterococos y muchas otras bacterias grampositivas. Los enterococos con resistencia del tipo VanA a la vancomicina también son resistentes a la teicoplanina, pero los enterococos con resistencia del tipo VanB a la vancomicina sí son susceptibles. El fármaco tiene una vida media prolongada y se administra una vez al día. Los efectos adversos incluyen irritación circunscrita a los sitios de inyección, hipersensibilidad y potencial para ototoxicidad y nefrototoxicidad. La teicoplanina se encuentra disponible en Europa pero no en EUA.

ESTREPTOGRAMINAS

La quinupristina-dalfopristina es un antibiótico estreptogramina inyectable que consiste en una mezcla 30:70 de dos derivados semisintéticos de la pristinamicina (un grupo estreptogramina B) y la dalfopristina (un grupo estreptogramina A). Los dos componentes actúan de manera sinérgica para inhibir un amplio espectro de bacterias grampositivas, el cual incluye estafilococos resistentes a la nafcilina, enterococos resistentes a la vancomicina y neumococos resistentes a la penicilina. La quinupristina-dalfopristina es activa contra algunos anaeróbicos y ciertas bacterias gramnegativas (p. ej., *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae*), pero no contra enterobacteriaceas, *Pseudomonas aeruginosa* o *Acinetobacter*. Pueden surgir enterococos resistentes a la vancomicina y también a la quinupristina-dalfopristina, pero es poco común.

BACITRACINA

La bacitracina es un polipéptido aislado de una cepa (cepa Tracy) del *Bacillus subtilis*. Es estable y poco absorbida en

el aparato gastrointestinal. Su único empleo es la aplicación tópica en la piel, heridas o en mucosas.

La bacitracina es principalmente bactericida para bacterias grampositivas, incluso estafilococos resistentes a la penicilina. Para empleo tópico se emplean concentraciones de 500 a 2 000 unidades por mililitro de solución o gramo de ungüento. En combinación con la polimixina B o la neomicina, la bacitracina es útil para suprimir flora bacteriana mixta en las lesiones superficiales.

La bacitracina es tóxica para el riñón, causa proteinuria, hematuria y retención de nitrógeno. Por esta razón, no tiene lugar en la terapéutica sistémica. Se estima que la bacitracina no induce hipersensibilidad con facilidad.

POLIMIXINAS

Las polimixinas son polipéptidos catiónicos básicos nefrotóxicos y neurotóxicos. Las polimixinas pueden ser bactericidas para muchos bacilos aeróbicos gramnegativos, incluso *Pseudomonas* y *Serratia*, porque se unen a las membranas celulares abundantes en fosfatidiletanolamina y suprimen las funciones de transporte activo y de barrera de permeabilidad. A causa de su toxicidad y su escasa distribución en los tejidos, las polimixinas se emplean principalmente por vía tópica y rara vez para infecciones sistémicas.

AMINOGLUCÓSIDOS

Los aminoglucósidos son un grupo de fármacos que comparten características químicas, antimicrobianas, farmacológicas y tóxicas. En el momento actual este grupo incluye estreptomycin, neomicina, kanamicina, amikacina, gentamicina, tobramicina, sisomicina, netilmicina y otras. Todas inhiben la síntesis de las proteínas de las bacterias mediante la adhesión e inhibición de la función de la subunidad 30S del ribosoma bacteriano. La resistencia se basa en 1) deficiencia del receptor ribosómico (cromosoma mutante), 2) destrucción enzimática del fármaco (resistencia transmisible mediada por plásmido y de importancia clínica), o 3) ausencia de permeabilidad a la molécula del fármaco y falta de transporte activo al interior de la célula. Esto último puede ser cromosómico (p. ej., los estreptococos son relativamente impermeables a los aminoglucósidos) o mediado por plásmido (p. ej., en bacterias entericas gramnegativas). Las bacterias anaeróbicas con frecuencia son resistentes a los aminoglucósidos, puesto que el transporte a través de la membrana celular es un proceso que requiere energía y depende del oxígeno.

Todos los aminoglucósidos son más activos en pH alcalino que en pH ácido. Son potencialmente ototóxicos y nefrotóxicos, aunque en diferente grado. En la insuficiencia renal pueden acumularse, por tanto, se deben efectuar ajustes notables de la dosis cuando hay retención de nitrógeno. Los aminoglucósidos se emplean más ampliamente contra bacterias entericas gramnegativas o cuando se sospecha septicemia. En el tratamiento de la bacteriemia o de la endocarditis causadas por estreptococos fecales o por al-

gunas bacterias gramnegativas, los aminoglucósidos se administran junto con una penicilina que facilita la entrada del primero. Los aminoglucósidos se seleccionan según los patrones recientes de susceptibilidad en una región geográfica determinada u hospital, en tanto se encuentren disponibles las pruebas de susceptibilidad sobre una bacteria específica aislada. La utilidad clínica de los aminoglucósidos declinó con la aparición de las cefalosporinas y las quinolonas, pero aún se emplean en combinaciones (p. ej., con cefalosporinas para bacteriemias por gramnegativos resistentes a múltiples fármacos). En el hemocultivo todos los aminoglucósidos con carga positiva se inhiben por el polianetolsulfonato sódico y otros detergentes polianiónicos. Algunos aminoglucósidos (en especial la estreptomycin) son útiles como antineoplasia bacterianos.

Neomicina y kanamicina

La kanamicina está muy relacionada con la neomicina y presenta actividad similar y resistencia cruzada completa. La paromomicina también está estrechamente relacionada y se emplea en la amibiasis. Estos fármacos son estables y poco absorbidos en el intestino y otras superficies. Ninguno se emplea por vía sistémica debido a su ototoxicidad y neurotoxicidad. La neomicina y la kanamicina se emplean en dosis vía oral para reducir la flora intestinal antes de la cirugía del intestino grueso, con frecuencia en combinación con la eritromicina. De otro modo, estos fármacos se limitan principalmente a la aplicación tópica sobre superficies infectadas (piel y heridas).

Amikacina

La amikacina es un derivado semisintético de la kanamicina. Es relativamente resistente a varias de las enzimas que inactivan a la gentamicina y a la tobramicina y por tanto se puede emplear contra algunos microorganismos resistentes a estos últimos fármacos. Sin embargo, la resistencia bacteriana debida a impermeabilidad a la amikacina va en aumento lentamente. Con las concentraciones logradas después de la inyección, la amikacina inhibe muchas bacterias entericas gramnegativas. Las infecciones del sistema nervioso central requieren inyecciones intratecal o intraventricular.

Igual que todos los aminoglucósidos, la amikacina es nefrotóxica y ototóxica (en particular para la rama auditiva del octavo nervio craneal). En los pacientes con insuficiencia renal se debe vigilar su concentración.

Gentamicina

En concentraciones de 0.5 a 5 µg/mL es bactericida para muchas bacterias grampositivas y gramnegativas, incluso muchas cepas de *Proteus*, *Serratia* y *Pseudomonas*. La gentamicina es ineficaz contra los estreptococos y los bacteroides.

La gentamicina se emplea en las infecciones graves causadas por bacterias gramnegativas no susceptibles a otros fármacos. Las penicilinas pueden precipitar la gentamicina

in vitro (y por tanto no deben mezclarse), pero *in vivo* a veces facilitan la entrada del aminoglucósido a los estreptococos y bacilos gramnegativos para producir sinergia bactericida benéfica en las septicemias y la endocarditis.

La gentamicina es tóxica sobre todo en presencia de insuficiencia renal. El sulfato de gentamicina, al 0.1%, se emplea por vía tópica en presentación de crema o solución para las quemaduras infectadas o las lesiones cutáneas. Estas cremas tienden a seleccionar las bacterias resistentes a la gentamicina, y el paciente a quien se le administra debe permanecer en aislamiento estricto.

Tobramicina

Este aminoglucósido es muy parecido a la gentamicina, y existe cierta resistencia cruzada entre ambos. Es deseable practicar pruebas de susceptibilidad por separado. La tobramicina tiene una actividad un poco mayor contra *Pseudomonas aeruginosa* cuando se compara con la gentamicina.

Las propiedades farmacológicas de la tobramicina son prácticamente idénticas a las de la gentamicina. La mayor parte del fármaco se excreta por filtración glomerular. En la insuficiencia renal la dosis del fármaco debe reducirse y es deseable vigilar la concentración sanguínea.

Igual que otros aminoglucósidos, la tobramicina es ototóxica, pero quizá menos nefrotóxica que la gentamicina. No se debe usar de manera simultánea con otros fármacos que posean efectos adversos similares o con diuréticos que tienden a incrementar la concentración de aminoglucósidos en los tejidos.

Netilmicina

La netilmicina comparte muchas características con la gentamicina y la tobramicina, pero no se inactiva por algunas bacterias resistentes a los otros fármacos.

La principal indicación para la netilmicina pueden ser las infecciones yarógenas en pacientes gravemente enfermos e inmunodeficientes, con riesgo muy grande de septicemia por bacterias gramnegativas en el ambiente hospitalario.

La netilmicina puede ser un poco menos ototóxica y nefrotóxica que los otros aminoglucósidos.

Estreptomina

La estreptomina fue el primer aminoglucósido: se descubrió en el decenio de 1940-49 como producto del *Streptomyces griseus*. Se estudió con mucho detalle y se convirtió en el prototipo de estos fármacos. Por esta razón, presentamos aquí una lista de sus propiedades, aunque la resistencia muy extendida entre los microorganismos redujo mucho su utilidad clínica.

Después de su inyección intramuscular, la estreptomina se absorbe con rapidez y se distribuye ampliamente en los tejidos, excepto en el sistema nervioso central. Sólo 5% de la concentración extracelular de la estreptomina alcanza el interior de la célula. La estreptomina absorbida se excreta por filtración glomerular en la orina. Después de

administración oral, se absorbe poco en el intestino; la mayor parte se excreta por las heces.

Puede ser bactericida para los enterococos (p. ej., en endocarditis) cuando se combina con una penicilina. En la tularemia y en la peste se puede administrar con una tetraciclina. En la tuberculosis se empleó en combinación con otros fármacos antituberculosos (isoniacida, rifampicina). La estreptomina no se debe usar sola para tratar alguna infección.

La eficacia terapéutica de la estreptomina se limita por el surgimiento rápido de mutantes resistentes. Todas las cepas microbianas producen mutantes cromosómicos resistentes a la estreptomina con una frecuencia relativamente grande. Los mutantes cromosómicos muestran alteración en el receptor p12 sobre la subunidad ribosómica 30S. La resistencia mediada por plásmido da lugar a la destrucción enzimática del fármaco. Los enterococos resistentes a grandes concentraciones de estreptomina (2 000 µg/mL) o de gentamicina (500 µg/mL) son resistentes a las acciones sinérgicas de estos fármacos con la penicilina.

La hipersensibilidad a la estreptomina puede manifestarse con fiebre, erupciones cutáneas y otras manifestaciones alérgicas. Esto se observa con mayor frecuencia luego de contacto prolongado con el fármaco, en pacientes a quienes se administra un ciclo prolongado de tratamiento (p. ej., para tuberculosis), o en el personal que prepara y maneja el fármaco (quienes preparan las soluciones deben usar guantes).

La estreptomina es muy tóxica para las neuronas de la rama vestibular del octavo nervio craneal, causa tinnitus, vértigo y ataxia, con frecuencia irreversibles. Es moderadamente nefrotóxica.

Espectinomina

La espectinomina es un antibiótico aminociclitol (relacionado con los aminoglucósidos) para administración intramuscular. Sólo se aplica en dosis única para el tratamiento de la gonorrea causada por gonococos productores de β lactamasa, o que afecta a personas hipersensibles a las penicilinas. Casi 5 a 10% de los gonococos probablemente son resistentes. Generalmente hay dolor en el sitio de inyección, y pueden aparecer náuseas y fiebre.

QUINOLONAS

Las quinolonas son análogos sintéticos del ácido nalidixico. En el cuadro 10-4 se muestra una lista de las quinolonas disponibles actualmente. El modo de acción de todas las quinolonas implica inhibición de la síntesis del DNA bacteriano mediante el bloqueo de la enzima DNA girasa.

Las primeras quinolonas (ácido nalidixico, ácido oxolinico y cinoxacina) no alcanzaron concentraciones sistémicas antibacterianas después de la ingestión oral y por tanto sólo eran útiles como antisépticos urinarios (véase más adelante). Los derivados fluorinados (p. ej., ciprofloxacina, norfloxacina y otras; véanse las estructuras en la figura 10-3) muestran mayor actividad antibacteriana y menor toxicidad y logran concentraciones clínicamente útiles en la sangre y los tejidos.

Prin
gene

Ácido
Conox
Ácido

Cortes

Activi

Las flu
aunque
10-5). E
bacteria
de terce
chlamy
inhibir
nolonas
positivo
resisten
activas
E. faeca
neralme
lonas m
anaerób
terapia
y anaer

Las
dad con
veces co
Dur
servado
los estaf
mica se
nismos:

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

...

Cuadro 10-4. Las quinolonas¹

Primera generación	Segunda generación	Tercera y cuarta generaciones
Ácido nalidixico Conoxacina Ácido oxolinico	Ciprofloxacina Enoxacina Lomefloxacina Ofloxacina	Clinafloxacina Gatifloxacina Gemifloxacina Levofloxacina Moxifloxacina Esfarfloxacina

¹Cortesía de B. Joseph Guglielmo, PharmD.

Actividad antimicrobiana

Las fluoroquinolonas inhiben muchos tipos de bacterias, aunque su espectro de actividad varía de una a otra (cuadro 10-5). Estos fármacos son altamente activos contra enterobacterias, incluyendo aquellas resistentes a cefalosporinas de tercera generación, especies *haemophilus*, neisserias, chlamydias y otras. *P. aeruginosa* y legionelas se logran inhibir con dosis mucho mayores de estos agentes. Las quinolonas varían en su actividad en contra de patógenos gram-positivos. Algunas son activas contra *S. pneumoniae* resistente a múltiples fármacos (cuadro 10-5); pueden ser activas contra estafilococos resistentes a nafcilina y contra *E. faecalis*. Los enterococos resistentes a vancomicina generalmente son resistentes a quinolonas. Las fluoroquinolonas más recientes tienen mayor actividad contra bacterias anaeróbicas, lo cual les permite ser utilizadas como monoterapia en el tratamiento de infecciones mixtas por aerobios y anaerobios.

Las fluoroquinolonas también pueden ejercer actividad contra *M. tuberculosis*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, y a veces contra *M. chelonae*.

Durante la terapéutica con fluoroquinolonas se ha observado el surgimiento de resistencia en las pseudomonas, los estafilococos y otros patógenos. La resistencia cromosómica se desarrolla por mutación e implica uno de dos mecanismos: alteración en la subunidad A de la enzima específica

DNA girasa; o cambio de la permeabilidad de la membrana externa, y como resultado menor acumulación del fármaco dentro de la bacteria.

Absorción y excreción

Después de la administración oral las fluoroquinolonas representativas se absorben bien y se distribuyen ampliamente en los líquidos y tejidos del cuerpo en grado variable, pero no alcanzan el sistema nervioso central en concentración significativa. La vida media en suero es variable (3 a 8 h) y puede prolongarse en la insuficiencia renal, según el fármaco específico empleado.

Las fluoroquinolonas se excretan principalmente en la orina a través del riñón, pero algo de la dosis puede metabolizarse en el hígado.

Usos clínicos

Las fluoroquinolonas generalmente son eficaces en las infecciones del aparato urinario y algunas de ellas también son útiles en la prostatitis. Algunas fluoroquinolonas (p. ej., ofloxacina) son útiles en el tratamiento de las enfermedades transmitidas por vía sexual causadas por la *N. gonorrhoeae* y la *C. trachomatis*, pero no tienen efecto sobre el *T. pallidum*. Estos fármacos pueden controlar infecciones de vías respiratorias inferiores causadas por el *H. influenzae* (pero no pueden ser fármacos de primera línea) y la enteritis causada por salmonela, shigela o campilobacter. A veces las fluoroquinolonas son apropiadas para el tratamiento de las infecciones bacterianas en los tejidos blandos y las infecciones ginecológicas importantes, así como para la osteomielitis originada por gramnegativos.

Efectos adversos

Los efectos adversos más notables son náuseas, insomnio, cefalea y mareo. En ocasiones aparecen otros trastornos

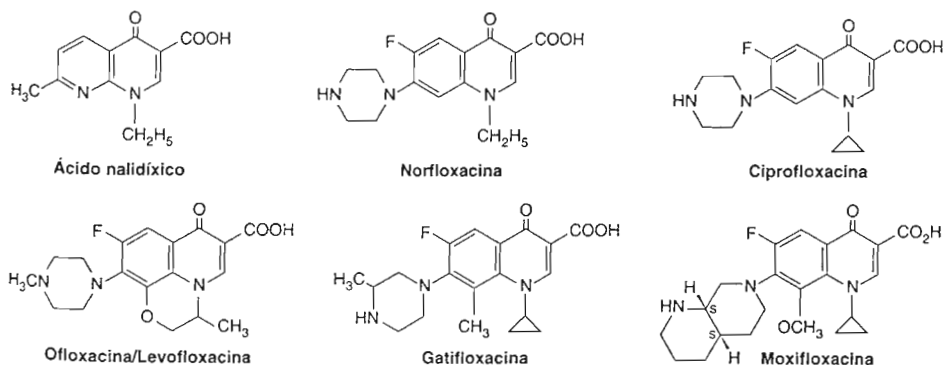


Figura 10-3. Estructuras de algunas fluoroquinolonas.

Cuadro 10-5. Espectro relativo de la actividad antibacteriana de las quinolonas¹

Fuerte	Moderada	Débil
Actividad grampositivos Clinafloxacin Gatifloxacina Gemifloxacina Levofloxacina Moxifloxacina	Ofloxacina Ciprofloxacina Enoxacin	Lomefloxacina Norfloxacina
Actividad gramnegativos Clinafloxacin Ciprofloxacina	Enoxacin Gatifloxacina Gemifloxacina Levofloxacina Lomefloxacina Moxifloxacina Ofloxacina Esparfloxacina	Norfloxacina
Actividad anaerobia Clinafloxacin Gatifloxacina Gemifloxacina Moxifloxacina	Esparfloxacina Levofloxacina Ofloxacina	Ciprofloxacina Lomefloxacina Enoxacin Norfloxacina

¹Cortesía de B. Joseph Guglielmo, PharmD.

gastrointestinales, alteración de la función hepática, erupciones cutáneas y superinfecciones, en particular con enterococos y estafilococos. En los cachorros la administración prolongada de fluoroquinolonas produce daño articular, y por esta razón las fluoroquinolonas rara vez se prescriben para niños, pero se emplean según se requiera en los pacientes con fibrosis quística.

SULFONAMIDAS Y TRIMETOPRIM

Las sulfonamidas son un gran grupo de compuestos con la fórmula básica que se muestra antes en este capítulo. Al sustituir varios radicales-R, se obtiene una serie de compuestos con propiedades físicas, farmacológicas y antibacterianas variables. El mecanismo de acción básico de todos estos compuestos es la inhibición competitiva por el aprovechamiento del ácido *p*-aminobenzoico (PABA). El empleo simultáneo de sulfonamidas con trimetoprim inhibe los pasos metabólicos secuenciales y genera una posible sinergia antibacteriana.

Las sulfonamidas son bacteriostáticas para algunas bacterias gramnegativas y grampositivas, clamidias, nocardias y protozoarios.

Las sulfonamidas "solubles" (p. ej., trisulfapirimidinas, sulfisoxazol) se absorben con facilidad del intestino después de la administración oral y se distribuyen en todos los tejidos y líquidos del cuerpo. La mayor parte de las sulfonamidas se excreta con rapidez en la orina. Algunas (p. ej., sulfametoxi-

piridacina) se excretan muy lentamente y por tanto tienden a ser tóxicas. Actualmente las sulfonamidas tienen particular utilidad en el tratamiento de la nocardiosis y de los ataques iniciales de las infecciones del aparato urinario causadas por bacterias coliformes. Por el contrario, muchos meningococos, shigelas, estreptococos del grupo A y microorganismos causantes de infecciones recidivantes de las vías urinarias son ahora resistentes. Una mezcla de cinco partes de sulfametoxazol más una parte de trimetoprim se utiliza ampliamente en las infecciones del aparato urinario, en las shigelosis y salmonelosis, y en las infecciones por otras bacterias gramnegativas y en la neumonía por neumocistis.

El trimetoprim sólo puede ser tratamiento eficaz para infecciones no complicadas de las vías urinarias.

Resistencia

Los microorganismos que no emplean PABA extracelular, como las células de mamíferos, pueden usar ácido fólico preformado y son resistentes a las sulfonamidas. En algunos mutantes resistentes a sulfonamidas, la ácido tetrahidropteroico sintetasa muestra una afinidad mucho mayor por el PABA que para las sulfonamidas. Lo opuesto es cierto para los microorganismos susceptibles a las sulfonamidas.

Efectos adversos

Las sulfonamidas solubles pueden producir efectos adversos clasificados en dos categorías, alergia y toxicidad. Muchas personas desarrollan hipersensibilidad a las sulfonamidas luego de un contacto inicial con estos fármacos y, con una nueva exposición, pueden presentar fiebre, ronchas, exantemas cutáneos y enfermedad vascular crónica como poliarteritis nodosa. Los efectos tóxicos se manifiestan mediante fiebre, rash cutáneo, trastornos gastrointestinales, supresión de la proliferación celular en la médula ósea causando anemia o agranulocitosis, anemia hemolítica, y anomalías del funcionamiento renal y hepático. La toxicidad es más frecuente en los pacientes con SIDA.

Examen bacteriológico

Cuando se cultivan muestras procedentes de pacientes a quienes se administran sulfonamidas, la incorporación de PABA (5 mg/dL) en el medio supera la inhibición por la sulfonamida.

OXAZOLIDINONAS

Las oxazolidinonas son fármacos sintetizados orgánicamente. La linezolid es la oxazolidinona disponible en EUA. Estos compuestos son activos contra bacterias grampositivas, incluyendo *S. aureus* nafcilina-resistente y estafilococos coagulasa-negativos, neumococos resistentes a penicilina y enterococos resistentes a vancomicina (se piensa que quizás también contra *S. aureus* de susceptibilidad intermedia a vancomicina).

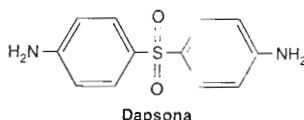
OTROS FÁRMACOS CON USOS ESPECIALIZADOS

Trimetrexato

El trimetrexato es un análogo del ácido fólico, cuyo mecanismo de acción es la inhibición de la dihidrofolatorreductasa. El uso primario de trimetrexato es en el tratamiento de las infecciones por *P. jiroveci* en los pacientes con SIDA intolerantes o refractarios al trimetoprim-sulfametoxazol y al isetonato de pentamidina. Puesto que el trimetrexato es lipófilo, difunde pasivamente a través de las membranas de las células del huésped con la toxicidad concomitante, principalmente supresión de la proliferación en médula ósea. Por tanto, se debe administrar concurrentemente con leucovorina cálcica, una coenzima folato reducida que se transporta al interior de la célula huésped y la protege, pero no al interior de *P. jiroveci*.

Dapsona

La dapsona es una sulfona íntimamente relacionada con las sulfonamidas. La terapéutica combinada con dapsona y rifampicina con frecuencia se administra como tratamiento inicial de la lepra. La dapsona también se puede usar para el tratamiento de la neumonía por *Pneumocystis* en los pacientes con SIDA. Se absorbe bien del aparato gastrointestinal y se distribuye ampliamente en los tejidos. Son comunes los efectos adversos que incluyen anemia hemolítica, intolerancia gastrointestinal, fiebre, prurito y exantema.



Metronidazol

El metronidazol es un fármaco antiprotozoario empleado en el tratamiento de tricomonas, giardia e infecciones amebianas. También tiene efectos notables en las infecciones por bacterias anaerobias, por ejemplo, las causadas por especies de *Bacteroides* y en vaginitis bacteriana. Parece ser eficaz en la preparación preoperatoria del colon y en el tratamiento de la diarrea relacionada con antibióticos que es causada por el *Clostridium difficile* toxigénico. Los efectos adversos incluyen estomatitis, diarrea y náuseas.

Antisépticos urinarios

Éstos son fármacos con efecto antibacteriano limitado a la orina. No producen concentraciones significativas en los tejidos y por tanto no tienen efecto sobre las infecciones sistémicas. Sin embargo, disminuyen de manera eficaz las cifras de bacterias en la orina y por tanto reducen significativamente los síntomas de la infección de las vías urinarias inferiores. Sólo se emplean en el tratamiento de las infecciones del aparato urinario.

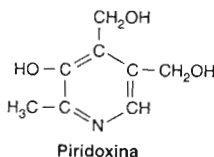
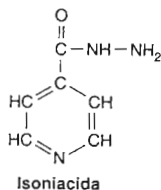
Los siguientes son antisépticos urinarios empleados comúnmente: nitrofurantoína, ácido nalidíxico, mandelato de metenamina e hipurato de metenamina. La nitrofurantoína es activa contra muchas bacterias, pero puede causar malestar gastrointestinal. El ácido nalidíxico es una quinolona sólo eficaz en la orina, pero pueden surgir rápidamente bacterias resistentes. Tanto el mandelato como el hipurato de metenamina acidifican la orina y liberan formaldehído. Otras sustancias que acidifican la orina (p. ej., metionina, jugo de arándano agrio) pueden producir bacteriostasia en la orina.

Los fármacos orales absorbidos sistémicamente que se excretan en altas concentraciones en la orina generalmente se prefieren en las infecciones agudas de las vías urinarias. Entre éstos se incluyen ampicilina, amoxicilina, sulfonamidas, quinolonas y otros.

FÁRMACOS UTILIZADOS PRINCIPALMENTE PARA TRATAR INFECCIONES MICOBACTERIALES

Isoniacida

La isoniácida tiene poco efecto sobre la mayor parte de las bacterias, pero es muy activa contra las micobacterias, en especial el *Mycobacterium tuberculosis*. La mayor parte de los bacilos tuberculosos se inhiben y mueren *in vitro* con 0.1 a 1 µg/mL de isoniácida, pero las grandes poblaciones de bacilos tuberculosos generalmente contienen algunos microorganismos resistentes a la isoniácida. Por esta razón, el fármaco se emplea en combinación con otros agentes antimicobacterianos (sobre todo etambutol o rifampicina) para reducir el surgimiento de bacilos tuberculosos resistentes. La isoniácida actúa sobre las micobacterias al inhibir la síntesis de los ácidos micólicos. La isoniácida y la piridoxina son análogos estructurales. Los pacientes a quienes se administra isoniácida excretan piridoxina en cantidades excesivas, lo que produce neuritis periférica. Esto se puede evitar con la administración de piridoxina, que no interfiere con la acción antituberculosa de la isoniácida.

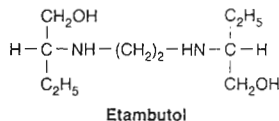


La isoniácida se absorbe rápida y completamente en el aparato gastrointestinal, en parte se acetila y en parte se excreta por la orina. Con las dosis comunes las manifestaciones tóxicas, por ejemplo, hepatitis, son poco frecuentes. La isoniácida difunde libremente dentro de los líquidos tisulares, incluso en el líquido cefalorraquídeo.

En individuos que dan positivas las pruebas cutáneas con tuberculina sin evidencia de enfermedad, la isoniácida se puede emplear como profilaxis durante un año.

Etambutol

El etambutol es un isómero-D sintético, hidrosoluble y termolabile de la estructura que se muestra a continuación.



Muchas cepas del *M. tuberculosis* y de micobacterias "atípicas" se inhiben *in vitro* mediante 1 a 5 µg/mL de etambutol.

El etambutol se absorbe bien en el intestino. Casi 20% del fármaco se excreta en las heces y 50% en la orina en una forma no alterada. La excreción se retarda en la insuficiencia renal. En la meningitis el etambutol aparece en el líquido cefalorraquídeo.

La resistencia al etambutol surge con bastante rapidez entre las micobacterias cuando el fármaco se utiliza solo. Por tanto, el etambutol siempre se administra en combinación con otros antituberculosos.

Generalmente el etambutol se administra en una sola dosis oral al día. La hipersensibilidad al etambutol es poco frecuente. Los efectos adversos más comunes son los trastornos visuales, aunque raros con las dosis estándar: en algunos pacientes a quienes se administran dosis grandes durante varios meses pueden presentarse reducción de la agudeza visual, neuritis óptica y a veces daño a la retina. La mayor parte de estos cambios aparentemente regresan cuando se intermite la administración del etambutol. Sin embargo, es obligatorio efectuar pruebas de la agudeza visual periódicamente durante el tratamiento. En dosis mínima, los trastornos visuales son poco comunes.

Rifampicina

La rifampicina es un derivado semisintético de la rifamicina, un antibiótico producido por el *Streptomyces mediterranei*. Es activa *in vitro* contra ciertos cocos grampositivos y gramnegativos, algunas bacterias entéricas, micobacterias, clamidias y poxvirus. Aunque muchos meningococos y micobacterias se inhiben con menos de 1 µg/mL, surgen mutantes muy resistentes en todas las poblaciones microbianas con una frecuencia de 10^{-6} a 10^{-5} . La administración prolongada de rifampicina como fármaco único permite el surgimiento de estos mutantes sumamente resistentes. No hay resistencia cruzada con otros antimicrobianos.

La rifampicina se une fuertemente a la RNA polimerasa dependiente del DNA y de esta manera inhibe la síntesis del RNA en la bacteria. Bloquea una etapa tardía del ensamblado de los poxvirus. La rifampicina penetra bien a las células fagocíticas y puede matar a los microorganismos intracelulares. Los mutantes resistentes a la rifampicina muestran alteración de la RNA polimerasa.

La rifampicina se absorbe bien después de su administración oral, se distribuye ampliamente en los tejidos, y se excreta principalmente a través del hígado y en menor grado por la orina.

En la tuberculosis se administra una sola dosis por vía oral junto con etambutol, isoniácida u otro fármaco antituberculoso para retardar el surgimiento de micobacterias resistentes a la rifampicina. Se puede aplicar un régimen similar a las micobacterias atípicas. En los esquemas para tratamiento a corto plazo de la tuberculosis, la rifampicina se administra por vía oral, primero todos los días (junto con isoniácida) y después 2 o 3 veces por semana durante 6 a 9 meses. Sin embargo, deben administrarse cuando menos dos dosis a la semana para evitar un "síndrome gripal" y anemia. La rifampicina empleada junto con una sulfona es eficaz en la lepra.

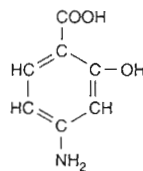
La rifampicina por vía oral puede eliminar la mayor parte de los meningococos en los portadores de éstos. Desafortunadamente, este procedimiento selecciona algunas cepas de meningococo muy resistentes. A los niños en estrecho contacto con la infección por *H. influenzae* (p. ej., en el hogar o en la guardería) se les puede administrar rifampicina como profilaxis. En las infecciones del aparato urinario y en la bronquitis crónica la rifampicina no es útil debido a la resistencia surgida con prontitud.

La rifampicina confiere un color naranja inocuo a la orina, al sudor y a los lentes de contacto. Los efectos adversos ocasionales incluyen exantemas, trombocitopenia, proteinuria de cadena ligera e insuficiencia hepática. La rifampicina induce enzimas microsomales (p. ej., citocromo p450).

La rifabutina es un fármaco antimicobacteriano relacionado, activo en la prevención de las infecciones causadas por el complejo *M. avium*.

Ácido aminosalicílico

El ácido aminosalicílico (ácido *p*-aminosalicílico; PAS) es muy parecido al ácido *p*-aminobenzoico y a las sulfonamidas. La mayor parte de las bacterias no se inhiben con el PAS, pero el bacilo tuberculoso habitualmente se inhibe con concentraciones del fármaco de 1 a 5 µg/mL. La micobacteria atípica es resistente. En las poblaciones de micobacte-



Ácido aminosalicílico

rias su
El em
loso i
con fr
gastro
dad es

Piraz

La pir
sorbe
buye
tuberc
namid
otros
advers
náusea

Ciclo

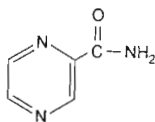
La ciclo
de mic
y el bac
la *p*-ala
bacteria
Ocasio
urinaria
tóxicos

1. Elag
se co
nes
mos.
A. E
B. F
C. V
D. S
E. M
2. La re
most
A. L
B. L

rias susceptibles tienden a surgir mutantes resistentes al PAS. El empleo simultáneo de un segundo fármaco antituberculoso inhibe este desarrollo. La dosis oral completa de PAS con frecuencia causa efectos adversos graves en el aparato gastrointestinal. Por tanto, el empleo de PAS en la actualidad está casi abandonado.

Pirazinamida

La pirazinamida se relaciona con la nicotinamida. Se absorbe con facilidad del aparato gastrointestinal y se distribuye ampliamente en los tejidos. El *Mycobacterium tuberculosis* desarrolla con rapidez resistencia a la pirazinamida, pero no hay resistencia cruzada con la isoniazida y otros fármacos antituberculosos. Los principales efectos adversos de la pirazinamida son hepatotoxicidad (1 a 5%), náuseas, vómito, hipersensibilidad e hiperuricemia.

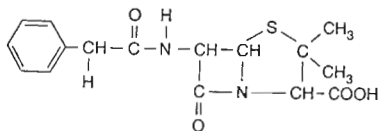


Pirazinamida (PZA)

Cicloserina

La cicloserina es un antibiótico activo contra muchos tipos de microorganismos, incluso bacterias coliformes proteus y el bacilo tuberculoso. Actúa al inhibir la incorporación de la D-alanina en el peptidoglucano de la pared de la célula bacteriana mediante el bloqueo de la alanina racemasa. Ocasionalmente se emplea en las infecciones del aparato urinario, pero con frecuencia causa efectos adversos neurotóxicos o choque y por tanto raras veces se utiliza.

Preguntas de revisión



- El agente antimicrobiano cuya estructura se ilustra antes se considera el fármaco de elección para tratar infecciones causadas por cuál de los siguientes microorganismos.
 - Bacteroides fragilis*
 - Pseudomonas aeruginosa*
 - Virus de herpes simple
 - Streptococcus pyogenes* (estreptococos del grupo A)
 - Mycobacterium tuberculosis*
- La resistencia de *Staphylococcus aureus* al fármaco mostrado antes se debe a:
 - La acción de la acetiltransferasa
 - La acción de la β lactamasa

- Sustitución del dipéptido D-Ala-D-Ala con el dipéptido D-Ala-D-Lac en el peptidoglucano de la pared celular
 - Permeabilidad reducida de la pared celular bacteriana al fármaco
 - S. aureus* es un patógeno intracelular
- La resistencia de *Streptococcus pneumoniae* al fármaco mostrado antes se debe a
 - La acción de la acetiltransferasa
 - La acción de la β lactamasa
 - Sustitución del dipéptido D-Ala-D-Ala con el dipéptido D-Ala-D-Lac en el peptidoglucano de la pared celular
 - Permeabilidad reducida de la pared celular bacteriana
 - Proteínas de enlace modificadas genéticamente en la pared celular bacteriana
 - ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca de la resistencia antimicrobiana de los enterococos es CORRECTO?
 - Los enterococos son susceptibles a sulfametoxazol-trimetoprim *in vivo*.
 - Las cefalosporinas son altamente activas contra los enterococos.
 - No ha ocurrido resistencia a las estreptograminas (quinupristina-dalfopristina).
 - Los enterococos resistentes a la vancomicina son comunes en Europa y EUA.
 - Los enterococos resistentes a la vancomicina son clones de manera consistente.
 - Una mujer asiática de 20 años de edad, que recientemente inmigró a EUA, manifiesta fiebre y una tos productiva de esputo con rastros de sangre. La paciente ha perdido 6 kg de peso corporal en las últimas seis semanas. En su radiografía de tórax se observan infiltrados bilaterales de los lóbulos superiores con cavidades. Una tinción rápida en ácido de su esputo muestra numerosos bacilos resistentes a la decoloración en ácido. El diagnóstico clínico es tuberculosis. Se llevan a cabo cultivos de esputo y se solicitan pruebas de susceptibilidad. ¿Cuál de los siguientes regímenes de fármacos sería un tratamiento inicial aceptable en tanto se esperan los resultados del cultivo y las pruebas de susceptibilidad?
 - Isoniazida, rifampina, pirazinamida y etambutol
 - Penicilina G y rifampina
 - Cefotaxima, clindamicina y trimetoprim-sulfametoxazol
 - Isoniazida sola
 - Vancomicina, gentamicina y clindamicina
 - ¿Cuál de las siguientes propiedades tienen los antibióticos de aminoglucósidos?
 - Causan anemia aplásica
 - Causan estimulación no específica de células B
 - Causan ototoxicidad y nefrotoxicidad
 - Causan fotosensibilización
 - ¿Cuáles enzimas, cuando se presentan en *Escherichia coli* o *Klebsiella pneumoniae*, dan como resultado resistencia a cefalosporinas de tercera generación?
 - 6'-Acetiltransferasa
 - 3'-fosfotransferasa
 - β lactamasa de amplio espectro
 - β lactamasa TEM-1
 - ¿Cuál de los siguientes grupos de agentes antimicrobianos actúa en microorganismos al inhibir la síntesis de proteínas?
 - Fluoroquinolonas
 - Aminoglucósidos
 - Penicilinas

- D. Glucopéptidos (p. ej., vancomicina)
E. Polimixinas
9. Hay muchas combinaciones de resistencia bacteriana antimicrobiana. ¿Cuál de las siguientes es de mayor interés internacional?
- A. Resistencia a sulfonamida en *Neisseria meningitidis*
B. Resistencia a penicilina G en *Neisseria gonorrhoeae*
C. Resistencia a ampicilina en *Haemophilus influenzae*
D. Resistencia a eritromicina en *Streptococcus pyogenes* (estreptococos del grupo A)
E. Resistencia a vancomicina en *Staphylococcus aureus*
10. ¿Por lo común cuál de los siguientes factores se ignora al seleccionar la terapia antimicrobiana inicial para una infección?
- A. Edad del paciente
B. Sitio anatómico de la infección (p. ej., meningitis o infección de vías urinarias)
C. Si el paciente está inmunocomprometido o no
D. Si el paciente tiene dispositivos en el lugar o no (p. ej., articulación artificial de la cadera, válvula cardíaca artificial, catéter urinario)
E. Esperar los resultados del cultivo y las pruebas de susceptibilidad

Respuestas; 1 = D; 2 = B; 3 = E; 4 = D; 5 = A; 6 = C; 7 = C; 8 = B; 9 = E; 10 = E;

REFERENCIAS

- Moellering RC *et al.*: Anti-infective therapy. Volume I Part I Section E. In: Mandell, Douglas, and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Yu VL, Merrigan TC Jr, Barriere SL (editors): *Antimicrobial Therapy and Vaccines*. Williams & Wilkins, 1999.

Flora microbiana normal del cuerpo humano

El término "flora microbiana normal" denota la población de microorganismos que habitan la piel y las mucosas de las personas sanas. Es una controversia que exista una flora viral normal en los humanos.

La piel y las mucosas siempre albergan algunos microorganismos que pueden clasificarse en dos grupos: 1) flora residente, que consta de tipos relativamente fijos de microorganismos presentes con regularidad en cierta región a una edad determinada; cuando se altera, se restablece por sí misma prontamente; 2) flora transitoria, que consiste en microorganismos no patógenos, o potencialmente patógenos, que habitan la piel o las mucosas durante horas, días o semanas; se deriva del ambiente y no produce enfermedad, tampoco se establece por sí misma de manera permanente sobre la superficie. En general, los miembros de la flora transitoria tienen poco significado mientras la flora residente normal permanezca intacta. Sin embargo, si la flora residente se altera, los microorganismos transitorios pueden colonizar, proliferar y producir enfermedad.

Los microorganismos encontrados con frecuencia en muestras obtenidas de diferentes partes del cuerpo humano (considerados flora normal) se listan en el cuadro 11-1. La clasificación de la flora bacteriana normal anaerobia se estudia en el capítulo 22.

FUNCIÓN DE LA FLORA RESIDENTE

Los microorganismos presentes en la superficie del cuerpo son comensales. Su proliferación en un determinado lugar depende de factores fisiológicos como temperatura, humedad y ciertas sustancias nutrientes e inhibidoras. Su presencia no es indispensable para la vida, puesto que animales "libres de gérmenes" pueden criarse sin una flora microbiana normal. Sin embargo, la flora residente de ciertas áreas desempeña una función definitiva para mantener la salud y la función normal. Los miembros de la flora residente en el intestino sintetizan vitamina K y ayudan en la absorción de

los nutrientes. En las mucosas y la piel, la flora residente puede evitar la colonización por patógenos y posibles enfermedades a través de la "interferencia bacteriana". Los mecanismos de interferencia bacteriana no son claros; pueden implicar competencia por receptores o sitios de unión sobre las células huésped, competencia por nutrientes, inhibición mutua por productos metabólicos tóxicos, inhibición mutua por antibióticos o bacteriocinas u otros mecanismos. La supresión de la flora normal claramente genera un vacío local parcial que tiende a llenarse por microorganismos del ambiente o de otras partes del cuerpo. Estos microorganismos se comportan como oportunistas y pueden convertirse en patógenos.

Por otro lado, bajo ciertas circunstancias, los miembros de la flora normal pueden producir enfermedad por sí mismos. Estos microorganismos están adaptados al modo de vida no invasor, definido por las limitaciones del entorno. Si artificialmente se les retira del ambiente restringido y se introducen al torrente sanguíneo o a los tejidos, a veces se vuelven patógenos. Por ejemplo, los estreptococos del grupo *viridans* son los microorganismos residentes más comunes de las vías respiratorias superiores. Cuando se introducen en gran número a la circulación (p. ej., después de una extracción dental o de amigdalectomía), pueden alojarse en válvulas cardíacas deformes o prótesis valvulares y producir endocarditis infecciosa. Un escaso número se observa transitoriamente en el torrente sanguíneo con los traumatismos menores (p. ej., limpieza o cepillado vigorosos de los dientes). Las especies de *Bacteroides* son las bacterias residentes más comunes del intestino grueso y son inofensivas en ese sitio. Cuando se introducen en la cavidad peritoneal libre o en los tejidos pélvicos junto con otras bacterias, como resultado de traumatismo, causan supuración y bacteriemia. Existen muchos otros ejemplos, pero el punto importante es que los microbios de la flora residente normal son inofensivos y pueden ser benéficos en su sitio normal dentro del huésped y sin anomalías coincidentes. Si se introducen en sitios extraños y en gran número, pueden causar enfermedad cuando hay factores predisponentes.

Cuadro 11-1. Flora bacteriana normal

Piel

Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus aureus (escasos)
 Especies de *Micrococcus*
 Especies no patógenas de *Neisseria*
 Estreptococos α hemolíticos y no hemolíticos
 Difteroides
 Especies de *Propionibacterium*
 Especies de *Peptostreptococcus*
 Pequeñas cantidades de otros microorganismos (especies de *Candida*, especies de *Acinetobacter*, etc.)

Nasofaringe

Cualquier cantidad de los siguientes: difteroides, especies no patógenas de *Neisseria*, estreptococos α hemolíticos; *S. epidermidis*, estreptococos no hemolíticos, anaerobios (demasiadas especies para mencionarlos en una lista; cantidades variables de especies de *Prevotella*, cocos anaerobios, difteroides, especies de *Fusobacterium*, etc.)

Cantidades menores de los siguientes cuando se acompañan de los microorganismos mencionados antes: levaduras, especies de *Haemophilus*, neumococos, *S. aureus*, bacilos gramnegativos, *Neisseria meningitidis*

Aparato gastrointestinal y recto

Varias enterobacteriáceas, excepto *Salmonella*
Shigella, *Yersinia*, *Vibrio* y especies de *Campylobacter*
 Bacilos gramnegativos no fermentadores de glucosa
 Enterococos
 Estreptococos α hemolíticos y no hemolíticos.
 Difteroides
S. aureus en cantidades pequeñas
 Levaduras en cantidades pequeñas
 Anaerobios en grandes cantidades (demasiadas especies para mencionarlos en una lista)

Genitales

Cualquier cantidad de los siguientes: especies de *Corynebacterium*, especies de *Lactobacillus*, estreptococos α hemolíticos y no hemolíticos, especies no patógenas
 Los siguientes, cuando están mezclados y no son predominantes: enterococos, enterobacteriáceas y otros bacilos gramnegativos, *S. epidermidis*, *Candida albicans* y otras levaduras
 Anaerobios (demasiados para una lista); los siguientes pueden ser importantes cuando están en cultivo puro o predominan claramente: *Prevotella*, *Clostridium* y especies de *Peptostreptococcus*

FLORA NORMAL DE LA PIEL

Debido a su continua exposición y contacto con el ambiente, la piel es particularmente apta para alojar microorganismos transitorios. No obstante, hay una flora residente constante y bien definida, modificada en las diferentes partes anatómicas por secreciones, cambio habitual de ropa o proximidad a mucosas (boca, nariz y región perineal).

Los microorganismos residentes predominantes de la piel son bacilos difteroides aerobios y anaerobios (p. ej., *Corynebacterium*, *Propionibacterium*), estafilococo no hemolítico aerobio y anaerobio (*Staphylococcus epidermidis*,

ocasionalmente *S. aureus* y especies de *Peptostreptococcus*); bacilos grampositivos aerobios formadores de esporas y ubicuos en el aire, agua y suelo; estreptococos hemolíticos α (*Streptococcus viridans*) y enterococos (especies de *Enterococcus*), y bacilos coliformes gramnegativos y acinetobacter. Con frecuencia, hongos y levaduras se encuentran en los pliegues cutáneos; las micobacterias no patógenas acidorresistentes se observan en áreas abundantes en secreciones sebáceas (genitales, oído externo).

Entre los posibles factores importantes para la eliminación de microorganismos no residentes en la piel están: pH bajo, ácidos grasos en la secreción sebácea y presencia de lisozima. Ni el sudor profuso, el lavado o el baño pueden eliminar o modificar de manera significativa la flora residente normal. En ocasiones, el número de microorganismos superficiales puede disminuir mediante frotado vigoroso diario con jabón a base de hexaclorofeno u otros desinfectantes, pero la flora se reemplaza con rapidez a partir de las glándulas sebáceas y sudoríparas, aun cuando el contacto con otras regiones de la piel o con el ambiente se excluya por completo. La colocación de un vendaje oclusivo sobre la piel tiende a incrementar notablemente la población microbiana total y también puede producir alteraciones cualitativas en la flora.

Con frecuencia, las bacterias aerobias y anaerobias se unen y causan infecciones sinérgicas (gangrena, fascitis necrosante, celulitis) en piel y tejidos blandos. Las bacterias casi siempre forman parte de la flora microbiana normal. Es difícil especificar un microorganismo particular como causante de la lesión progresiva, puesto que generalmente participan mezclas de microorganismos.

FLORA MICROBIANA NORMAL DE LA BOCA Y DE VÍAS RESPIRATORIAS SUPERIORES

La flora microbiana de la nariz consta principalmente de corinebacterias, estafilococos (*S. epidermidis*, *S. aureus*) y estreptococos.

Las mucosas de boca y faringe casi siempre son estériles al nacimiento, pero pueden contaminarse durante su paso a través del conducto del parto. En las primeras 4 a 12 h después del nacimiento, el estreptococo viridans se establece como el miembro más notable de la flora residente, y así permanece durante toda la vida. Estos microorganismos tal vez se originan en el aparato respiratorio de la madre y de las personas que atienden el parto. En las primeras horas de vida se adquieren estafilococos aerobios y anaerobios, diplococos gramnegativos (*Neisseria*, *Moraxella catarrhalis*), difteroides y, en ocasiones, lactobacilos. Cuando comienza la erupción de los dientes se establecen espiroquetas anaerobias, especies de *Prevotella* (en especial la *P. melaninogenica*), de *Fusobacterium*, de *Rothia* y de *Campylobacter* (véase más adelante) junto con algunos vibriones anaerobios y lactobacilos. Especies de *Actinomyces* se encuentran normalmente en el tejido amigdalino y en las encías de los adultos, donde también a veces hay diferentes protozoarios. En la boca se encuentran hongos (especies de *Candida*).

En similar, p...
 terias. Por...
 los alveo...
 nantes en...
 faringe, y...
 y *Neisse...*
 des, *Haem...*
 La f...
 bios, por...
 respirato...
 peribuca...
 sobre to...
 peptostre...
 de 10² d...
 vocar ne...

Función de la bacteria

La caries...
 superficial...
 mero se...
 de célula...
 la ferme...
 de la den...
 la matriz...

Una...
 caries pa...
 sobre la...
 principal...
 peso mol...
 ácido se...
 (*Streptoc...*
 ñados de...
 de carbol...
 lación en...
 esmalte...
 de caries...
 ácido (pl...
 placa a p...
 ácido des...

En a...
 los estre...
 de placa...
 tanto la s...
 mediante...
 sitios de...
 nas. (Los...
 dan a la...
 superficial...
 ra bucal...
 jos con la...
 presentes...
 carbohid...
 perficie...
 mutans p...
 estreptoc...
 daño esp...
 cos de la...

En faringe y tráquea también se establece una flora similar, pero en los bronquios normales hay muy pocas bacterias. Por lo general, los bronquios de pequeño calibre y los alveolos son estériles. Los microorganismos predominantes en las vías respiratorias superiores, sobre todo en la faringe, son estreptococos no hemolíticos y α hemolíticos, y *Neisserias*. También se encuentran estafilococos, difteroides, *Haemophilus*, neumococos, micoplasma y prevotella.

La flora oronasal mixta, incluso los organismos anaerobios, por lo general causan infecciones de la boca y las vías respiratorias. Las infecciones periodontales, los abscesos peribuccales, la sinusitis y la mastoiditis pueden involucrar sobre todo *Prevotella melaninogenica*, fusobacterium y peptostreptococos. La aspiración de saliva (que contiene más de 10^7 de estos microorganismos y de aerobios) puede provocar neumonía necrosante, absceso pulmonar y empiema.

Función de la flora normal de la boca en la caries dental

La caries es una desintegración del diente que se inicia en la superficie y progresivamente avanza al interior de éste. Primero se desmineraliza el esmalte superficial, el cual carece de células. Esto se atribuye al efecto de productos ácidos de la fermentación bacteriana. La descomposición subsecuente de la dentina y el cemento implica la digestión bacteriana de la matriz protéica.

Una primera etapa indispensable en la producción de la caries parece ser la formación de la placa dentobacteriana sobre la superficie dura del esmalte liso. Esta placa consta, principalmente, de depósitos gelatinosos de glucanos de alto peso molecular; en dicha placa las bacterias productoras de ácido se adhieren al esmalte. En presencia de estreptococos (*Streptococcus mutans*, peptostreptococos), quizá acompañados de actinomicetos, se producen sobre todo polímeros de carbohidratos (glucanos). Parece existir una fuerte correlación entre el *S. mutans* y la caries en áreas específicas del esmalte. La segunda etapa indispensable para la producción de caries tal vez sea la formación de grandes cantidades de ácido (pH < 5.0) por los estreptococos y lactobacilos de la placa a partir de carbohidratos. Las concentraciones grandes de ácido desmineralizan el esmalte adyacente e inician la caries.

En animales de experimentación "libres de gérmenes", los estreptococos cariogénicos pueden inducir la formación de placa y caries. La adherencia a superficies lisas requiere tanto la síntesis de polímeros de glucanos insolubles en agua mediante la glucosiltransferasa, como la participación de sitios de fijación sobre la superficie de las células microbianas. (Los polímeros de carbohidratos quizá también ayudan a la adhesión de algunos estreptococos sobre las superficies endocárdicas.) Otros miembros de la microflora bucal, por ejemplo, la *Veillonella*, pueden formar complejos con la glucosiltransferasa de los *Streptococcus salivarius* presentes en la saliva y en seguida sintetizar polímeros de carbohidratos insolubles en agua que se adhieren a la superficie de los dientes. El anticuerpo salival IgA contra *S. mutans* puede iniciar la adherencia. Ciertos difteroides y estreptococos que producen levanos pueden inducir el daño específico a tejidos blandos y la reabsorción ósea típicos de la enfermedad periodontal. Una vez dañado el es-

malte, los microorganismos proteolíticos, incluso actinomicetos y bacilos, desempeñan una función importante en la acción microbiana subsecuente sobre la dentina. El desarrollo de caries también depende de factores genéticos, hormonales, nutricionales y otros más. El control de la caries implica retirar físicamente la placa, limitar la ingestión de sacarosa, buena nutrición con ingestión adecuada de proteínas, reducir la producción de ácido en la boca mediante la limitación de los carbohidratos disponibles y el lavado frecuente. La aplicación de fluoruro a los dientes o su ingestión en el agua incrementa la resistencia del esmalte al ácido. El control de la enfermedad periodontal requiere eliminación de cálculos (depósitos calcificados) y buena higiene bucal.

Las bolsas periodontales en las encías son fuente abundante de microorganismos, incluso anaerobios rara vez encontrados en otra parte. Aunque éstos pueden participar en la enfermedad periodontal y la destrucción de tejidos, sólo se les presta atención cuando se implantan en alguna otra parte, por ejemplo, cuando producen endocarditis infecciosa o bacteriemia en un huésped granulopénico. Los ejemplos son especies de *Campylobacter* y *Rothia dentocariosa*. Las especies de *Campylobacter* son anaerobios gramnegativos, fusiformes y deslizantes. Las especies de *Rothia* son bacilos pleomórficos aerobios y grampositivos. Es probable que ambos formen parte de la compleja flora bacteriana de la enfermedad periodontal y participen en ésta cuando la destrucción del hueso es notable. En pacientes inmunodeficientes granulopénicos, estos microbios pueden producir lesiones oportunistas graves en otros órganos.

FLORA NORMAL DEL INTESTINO

Al nacer, el intestino es estéril, pero pronto se introducen microorganismos con los alimentos. En niños alimentados al seno materno, el intestino contiene gran número de estreptococos y lactobacilos. Estos microorganismos aerobios y anaerobios, grampositivos, sin motilidad (p. ej., especies de *Bifidobacterium*) producen ácido a partir de carbohidratos y toleran un pH de 5.0. En niños alimentados con biberón existe una flora normal más variada en el intestino, y los lactobacilos son menos abundantes. Conforme los hábitos alimentarios se desarrollan y se aproximan al patrón del adulto, la flora intestinal cambia. La dieta ejerce una notable influencia sobre la composición relativa de la flora intestinal y fecal. El intestino de recién nacidos atendidos en la unidad de cuidados intensivos tiende a ser colonizado por enterobacterias, por ejemplo, *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Enterobacter*.

En el adulto sano, el esófago contiene microorganismos que llegan con la saliva y los alimentos. La acidez del estómago mantiene el número de microorganismos en el mínimo (10^3 a 10^5 /g de contenido), salvo cuando una obstrucción del píloro favorece la proliferación de cocos y bacilos grampositivos. El pH ácido normal del estómago protege notablemente contra la infección causada por algunos patógenos entéricos, por ejemplo, cólera. La administración de cimetidina para el tratamiento de úlcera péptica incrementa la flora microbiana del estómago, incluso varios microorganismos generalmente presentes en las heces. Con-

forme el pH del contenido intestinal se alcaliniza, la flora residente aumenta poco a poco. En el duodeno del adulto existen de 10^3 a 10^6 bacterias por gramo de contenido; en el yeyuno e ileon, de 10^2 a 10^3 bacterias por gramo; y en el ciego y el colon transverso, de 10^8 a 10^{10} bacterias por gramo. En el intestino superior predominan lactobacilos y enterococos, pero en la porción inferior del ileon y en el ciego la flora es fecal. En el colon sigmoide y el recto hay casi 10^{11} bacterias por gramo de contenido y constituye de 10 a 30% de la masa fecal. Los organismos facultativos superan a los anaerobios 1 000 veces. Durante los episodios de diarrea, el contenido bacteriano puede disminuir, mientras que en la estasis intestinal la cifra aumenta.

En el colon del adulto sano, 96 a 99% de la flora bacteriana residente consta de anaerobios: especies de *Bacteroides*, en especial de *B. fragilis*; especies de *Fusobacterium*; lactobacilos anaerobios, por ejemplo, *bifidobacterium*; clostridios (*C. perfringens*, 10^2 a 10^5 /g) y cocos anaerobios grampositivos (especies de *Peptostreptococcus*). Sólo 1 a 4% son aeróbicos facultativos (bacterias coliformes gramnegativas, enterococos y un pequeño número de *proteus*, *pseudomonas*, lactobacilos, *cándida* y otros microorganismos). Por lo regular, más de 100 tipos distintos de microorganismos se presentan en la flora fecal normal. Los traumatismos menores (p. ej., sigmoidoscopia o enema de bario) pueden inducir bacteriemia transitoria en casi 10% de los procedimientos.

Las bacterias intestinales son importantes para la síntesis de la vitamina K, conversión de pigmentos y de ácidos biliares, absorción de nutrientes y desdoblamiento de productos, así como para el antagonismo a patógenos microbianos. La flora intestinal produce amonio y otros productos de descomposición que se absorben y pueden contribuir al coma hepático. Entre las bacterias coliformes aerobias, sólo unos serotipos persisten en el colon durante tiempo prolongado, y la mayor parte de los serotipos de *Escherichia coli* sólo se presentan pocos días.

Los antimicrobianos administrados en el humano por vía oral pueden suprimir de la flora fecal, por un tiempo, los organismos susceptibles al fármaco. Esto por lo general se logra con la administración vía oral de fármacos insolubles antes de una operación. Por ejemplo, neomicina + eritromicina pueden suprimir en 1 a 2 días parte de la flora normal, en especial los microorganismos aerobios. Con metronidazol se consigue eliminar anaerobios. Cuando se efectúa cirugía en la parte inferior del intestino y el número de microorganismos se encuentra en su menor valor, se logra cierta protección contra la infección por contaminación accidental. Sin embargo, poco después las cifras de la flora fecal aumentan otra vez hasta sus valores normales o aun más, principalmente de los microorganismos seleccionados a causa de su resistencia relativa a los fármacos empleados. Los microorganismos susceptibles son reemplazados por los resistentes al fármaco, en particular estafilococos, enterobacter, enterococos, *proteus*, *pseudomonas*, *Clostridium difficile* y levaduras.

La alimentación con grandes cantidades de *Lactobacillus acidophilus* puede inducir el establecimiento transitorio de este organismo en el intestino, con la supresión parcial de la otra microflora intestinal.

La flora anaerobia del colon, que incluye *B. fragilis*, clostridios y peptostreptococos, desempeña una función importante en la formación de los abscesos originados por

perforación intestinal. Las *Prevotella bivia* y *P. disiens* son importantes patógenos que pueden causar abscesos de la pelvis originados en los órganos genitales femeninos. Igual que el *B. fragilis*, estas especies son resistentes a la penicilina; por tanto, se debe emplear otro agente antibiótico.

FLORA MICROBIANA NORMAL DE LA URETRA

La porción anterior de la uretra de ambos sexos contiene un pequeño número de microorganismos de los mismos tipos observados sobre la piel y el perineo. Estos microorganismos suelen encontrarse en la orina normal excretada en cantidades de 10^2 a 10^4 /mL.

FLORA MICROBIANA NORMAL DE LA VAGINA

Poco después del nacimiento aparecen lactobacilos aerobios en la vagina y persisten mientras el pH sea ácido (varias semanas); cuando el pH se vuelve neutro (permaneciendo así hasta la pubertad) se presenta una flora mixta de cocos y bacilos. En la pubertad reaparecen los lactobacilos aerobios y anaerobios en gran número, y contribuyen a mantener el pH ácido mediante la producción de ácido a partir de carbohidratos, en particular del glucógeno. Éste parece ser un mecanismo importante para prevenir el establecimiento de otros microorganismos en la vagina, tal vez nocivos. Si se suprimen los lactobacilos por la administración de antimicrobianos, aumenta el número de levaduras o de algunas bacterias y provocan irritación e inflamación. Después de la menopausia, los lactobacilos disminuyen una vez más y retorna la flora mixta. La flora vaginal normal incluye a estreptococos del grupo B en poco más o menos 25% de las mujeres en edad fértil. Durante el proceso de nacimiento, un bebé puede adquirir estreptococos del grupo B, que después podrían causar sepsis neonatal y meningitis. La flora vaginal normal con frecuencia incluye también estreptococos α hemolíticos del grupo B, estreptococos anaerobios (peptostreptococos), especies de *Prevotella*, *Clostridium*, *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, y a veces *Listeria* o especies de *Mobiluncus*. El moco cervical tiene actividad antibacteriana y contiene lisozimas. En algunas mujeres, el vestíbulo vaginal contiene una abundante flora parecida a la del perineo y de la región perianal. Esto puede ser un factor predisponente a infecciones recurrentes del aparato urinario. Los microorganismos vaginales presentes en el momento del parto pueden infectar al recién nacido (p. ej., estreptococos del grupo B).

FLORA MICROBIANA NORMAL DE LA CONJUNTIVA

Los microorganismos predominantes en la conjuntiva son difteroides (*Corynebacterium xerosis*), *S. epidermidis* y

es:reptococos no hemolíticos. Con frecuencia también se encuentran *Neisserias* y bacilos gramnegativos parecidos a *haemophilus* (especies de *Moraxella*). La flora conjuntival normalmente se conserva estacionaria por el flujo de las lágrimas, que contienen lisozima antibacteriana.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Una mujer de 26 años de edad visita a su médico por presentar flujo vaginal inusual. En el examen el médico observa flujo de color blanco grisáceo homogéneo y delgado que se adhiere a la pared vaginal. El pH es de 5.5 (normal: < 4.3). En la tinción de Gram se observan muchas células epiteliales cubiertas con bastoncillos gramvariables. Se diagnostica vaginosis bacteriana. ¿Cuál de los siguientes microorganismos de la flora genital normal está presente en cantidades muy reducidas en la vaginosis bacteriana?
 - Especies de *Corynebacterium*
 - Staphylococcus epidermidis*
 - Especies de *Prevotella*
 - Candida albicans*
 - Especies de *Lactobacillus*
- Ciertos microorganismos nunca son considerados como miembros de la flora normal. Siempre son considerados como patógenos. ¿Cuál de los siguientes microorganismos entra en esa categoría?
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Escherichia coli*
 - Mycobacterium tuberculosis*
 - Staphylococcus aureus*
 - Neisseria meningitidis*
- Una niña de nueve años de edad manifiesta fiebre y dolor intenso en el lado derecho de la garganta. En el examen, se observa hiperemia e inflamación en el área peritonsilar derecha. Se diagnostica un absceso peritonsilar. Los organismos más probables cultivados en este absceso son:
 - Staphylococcus aureus*
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Especies de *Corynebacterium* y *Prevotella melanogenica*
 - Flora nasal-bucal normal
 - Streptococcus viridans* y *Candida albicans*
- Un hombre de 70 años de edad con una historia de diverticulosis del colon sigmoide experimenta el inicio repentino de dolor abdominal intenso en el cuadrante inferior izquierdo. Se presenta fiebre. El dolor intenso disminuye poco a poco y lo sustituye un dolor sordo y continuo y marcada sensibilidad abdominal. Se hace un diagnóstico de probable divertículo roto y se lleva al paciente a la sala de operación. Se confirma el diagnóstico de divertículo roto y se encuentra un absceso junto al colon sigmoide. Las bacterias que se encuentran con más probabilidad en el absceso son:
 - Flora gastrointestinal normal mixta
 - Sólo *Bacteroides fragilis*
 - Sólo *Escherichia coli*
 - Sólo *Clostridium perfringens*
 - Sólo especies de *Enterococcus*
- La terapia antimicrobiana puede disminuir la cantidad de flora intestinal susceptible y permitir la proliferación de bacterias colónicas relativamente resistentes. ¿Cuál de las siguientes especies puede proliferar y producir una toxina que cause diarrea?
 - Especies de *Enterococcus*
 - Staphylococcus epidermidis*
 - Pseudomonas aeruginosa*
 - Clostridium difficile*
 - Bacteroides fragilis*
- ¿Cuál de los siguientes microorganismos puede ser parte de la flora vaginal normal y causar meningitis en los recién nacidos?
 - Candida albicans*
 - Especies de *Corynebacterium*
 - Staphylococcus epidermidis*
 - Ureaplasma urealyticum*
 - Streptococcus* del grupo B
- ¿Por cuánto tiempo se puede esperar que permanezcan en el colon I a mayor parte de los serotipos de *Escherichia coli*?
 - Unos cuantos días
 - Algunas semanas
 - Seis meses
 - Dos años
 - Toda una vida
- ¿Cuál de los siguientes microorganismos tiene una relación estrecha con la caries dental?
 - Candida albicans*
 - Streptococcus mutans*
 - Prevotella melaninogenica*
 - Neisseria subflava*
 - Staphylococcus epidermidis*
- Las bacterias anaerobias como *Bacteroides fragilis* se presentan en el colon sigmoide en una concentración de alrededor de 10^{11} /g de heces. ¿En qué concentración se presentan los organismos facultativos como *Escherichia coli*?
 - 10^{11} /g
 - 10^{10} /g
 - 10^9 /g
 - 10^8 /g
 - 10^7 /g
- El *Streptococcus pneumoniae* puede ser parte de la flora normal de 5 a 40% de las personas. ¿En qué sitio anatómico se le puede encontrar?
 - Conjuntiva
 - Nasofaringe
 - Colon
 - Uretra
 - Vagina

Respuestas: 1 = E; 2 = C; 3 = D; 4 = A; 5 = D; 6 = E; 7 = A; 8 = D; 9 = B; 10 = D

REFERENCIAS

Hentges DJ: The anaerobic microflora of the human body. Clin Infect Dis 1993;16(Suppl 4):S175.

Macowiak PA: The normal microbial flora. N Engl J Med 1982; 307:83.

The pathogenesis of periodontal diseases. J Periodontol 1999;70:457.

Redondo-Lopez V, Cook RL, Sobel JD: Emerging role of lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. Rev Infect Dis 1984;6(Suppl 1):S62.

Los ba
Bacillu
puesto
te dura
roobica

D

Clostri

caracte

rias esp

El ántro

microb

trax loc

veces e

importa

Bacillu

ocasion

Los clo

diadas

botulin

gaseosa

Otros c

bias mi

• Botulismo El botulismo produce un síndrome de intoxicación.

El géne

positivo

este gé

suelo.

cereus

sectos.

produc

envene

ganism

Bacilos grampositivos formadores de esporas: especies de *Bacillus* y de *Clostridium*

Los bacilos grampositivos formadores de esporas son los *Bacillus* y las especies de *Clostridium*. Estos son ubicuos y, puesto que forman esporas, pueden sobrevivir en el ambiente durante muchos años. Las especies de *Bacillus* son aerobias, y los clostridios son anaerobios obligados.

De las numerosas especies de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*, la mayor parte no son patógenas y no están bien caracterizadas en la microbiología médica. Sin embargo, varias especies causan enfermedades importantes en humanos. El ántrax, un prototipo de enfermedad en la historia de la microbiología, es causada por el *Bacillus anthracis*. El ántrax todavía es una enfermedad importante en animales y a veces en humanos, y el *B. anthracis* puede ser un agente importante en la guerra biológica y en el bioterrorismo. El *Bacillus cereus* causa envenenamiento por alimentos y en ocasiones infecciones localizadas en los ojos y otros sitios. Los clostridios causan varias enfermedades importantes mediadas por toxinas: *Clostridium tetani*, tétanos; *Clostridium botulinum*, botulismo; *Clostridium perfringens*, gangrena gaseosa, y *Clostridium difficile*, colitis pseudomembranosa. Otros clostridios también se encuentran en infecciones anaerobias mixtas en humanos (véase capítulo 22).

ESPECIES DE *BACILLUS*

El género *Bacillus* incluye bacilos aerobios grandes, grampositivos, que forman cadenas. Casi todos los miembros de este género son microorganismos saprofitos prevalentes en suelo, agua, aire y sobre la vegetación, como el *Bacillus cereus* y el *Bacillus subtilis*. Algunos son patógenos de insectos. El *B. cereus* puede desarrollarse en los alimentos y producir una enterotoxina o una toxina emética y causar envenenamiento alimentario. En ocasiones, estos microorganismos producen enfermedad en humanos inmunodefi-

cientes (p. ej., meningitis, endocarditis, endofalmitis, conjuntivitis o gastroenteritis aguda). El *B. anthracis* causante del ántrax es el principal patógeno de este género.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las células típicas miden 1×3 a $4 \mu\text{m}$, tienen extremos cuadrados y se disponen en largas cadenas; las esporas se ubican en el centro de los bacilos sin motilidad.

B. Cultivo

Las colonias del *B. anthracis* son redondas y tienen aspecto de "vidrio esmerilado" con luz transmitida. Con el *B. anthracis*, la hemólisis es rara, pero común con los bacilos saprofitos. Licuan la gelatina y el crecimiento mediante picadura en medio de cultivo a base de gelatina toma el aspecto de un árbol de pino invertido.

C. Características del crecimiento

Los bacilos saprofitos utilizan fuentes simples de nitrógeno y carbono para obtener energía y crecer. Las esporas resisten cambios del ambiente, calor seco y ciertos desinfectantes químicos durante periodos moderados, y en tierra seca persisten durante años. Los productos animales contaminados con esporas del ántrax (p. ej., cuero, cerdas, pelos, lana, hueso) sólo pueden esterilizarse en autoclave.

BACILLUS ANTHRACIS

Patogenia

El ántrax es sobre todo una enfermedad de animales herbívoros —cabras, ovejas, reses, caballos, etc.—; otros animales (p. ej., ratas) son relativamente resistentes a la infección. Los humanos se infectan de manera incidental a través del contacto con animales infectados o sus productos. En los ani-

males entra por vía oral y el conducto gastrointestinal. Las esporas de los suelos contaminados logran fácil acceso cuando el animal las ingiere junto con vegetación espinosa o irritante. En los humanos, la infección generalmente se adquiere por la entrada de las esporas a través de la piel lesionada (ántrax cutáneo), o en ocasiones por la inhalación de esporas que finalmente llegan a pulmones (ántrax por inhalación).

Las esporas germinan en los tejidos del sitio de entrada, y el crecimiento de microorganismos vegetativos da lugar a la formación de edema gelatinoso y congestión. Los bacilos se propagan por vía linfática a la circulación sanguínea y se multiplican libremente en sangre y tejidos, poco tiempo antes y después de la muerte del animal.

B. anthracis (figura 12-1) que no produce cápsula no es virulento ni produce ántrax en animales experimentales. La cápsula de ácido poli-D-glucámico es antifagocítica. El gen que codifica la cápsula se localiza en un plásmido.



Figura 12-1. A: *Bacillus anthracis* en cultivo (amplificación original $\times 1\,000$). B: *Bacillus anthracis* en tejido (amplificación original $\times 400$). (Cortesía de PS Brachman.)

La toxina del ántrax está constituida por tres proteínas: antígeno protector (AP), factor edema (FE) y factor letal (FL). El AP se fija a receptores celulares del huésped y, después de la activación proteolítica, forma un canal de membrana que media la entrada de FE y FL a la célula. El FE es una adenilato ciclasa y, junto con el AP, forma una toxina conocida como toxina edema. El FL más AP forman la toxina letal, la cual es el principal factor de virulencia y causa la muerte de los animales infectados. Cuando se inyecta a animales de laboratorio (p. ej. ratas), la toxina letal puede matarlos rápidamente. Los genes que codifican para las toxinas del ántrax se localizan en otro plásmido.

En el ántrax por inhalación ("enfermedad del trasquilador de lana"), las esporas derivadas del polvo de la lana, pelo o piel son inhaladas, fagocitadas en los pulmones y transportadas por drenaje linfático hacia los ganglios linfáticos mediastinales, donde tiene lugar la germinación, seguida por la producción de toxina y desarrollo de mediastinitis hemorrágica y septicemia, que en general causan una muerte rápida. En la septicemia por ántrax el número de microorganismos en la sangre es mayor de $10^7/\text{mL}$ justo antes de la muerte.

Patología

En los animales susceptibles, el microorganismo prolifera en el sitio de entrada. Las cápsulas permanecen intactas y los microorganismos están rodeados por una gran cantidad de líquido proteínico con pocos leucocitos, a partir del cual se diseminan con rapidez y alcanzan la circulación sanguínea.

En los animales resistentes, los microorganismos proliferan durante pocas horas, después de este lapso hay acumulación masiva de leucocitos. Las cápsulas se desintegran y desaparecen gradualmente. Los microorganismos permanecen localizados.

Datos clínicos

En humanos, en aproximadamente 95% de los casos, el ántrax es cutáneo y 5% por inhalación. El ántrax gastrointestinal es muy raro; se reportó en África, Asia y en EUA después de ingestión de carne de animales infectados.

Los sucesos de bioterrorismo en el otoño de 2001 (véase capítulo 48) produjeron 22 casos de ántrax: 11 por inhalación y 11 cutáneos. Cinco de los que inhalaban ántrax murieron. Los demás pacientes sobrevivieron.

Por lo general, el ántrax cutáneo se presenta en superficies expuestas de brazos o manos, y después en la piel de cara y cuello. El proceso inicia con una pápula pruriginosa que se desarrolla de 1 a 7 días después de la entrada de los microorganismos o sus esporas a través de una lesión. Al principio se asemeja a la mordedura de un insecto. La pápula rápidamente cambia a una vesícula o un anillo pequeño de vesículas que coalescen hasta formar una úlcera necrótica. Las lesiones tienen un diámetro de 1 a 3 cm y una escara negra central característica. Se desarrolla edema notable de la zona afectada; pueden presentarse linfangitis, linfadenopatía y signos y síntomas sistémicos como fiebre, mal estado general y cefalalgia. Después de 7 a 10 días, la escara se desarrolla completamente; con el tiempo se seca, se afunda y se cae; la cicatrización es mediante granulación, dejando

una cicatriz. Puede tomar muchas semanas para que la lesión cicatrice y el edema desaparezca. La terapéutica antibiótica parece no modificar la progresión natural de la enfermedad. Hasta en 20% de los pacientes el ántrax cutáneo puede llevar a sepsis, con las consecuencias de una infección sistémica, incluyendo meningitis y muerte.

El periodo de incubación del ántrax por inhalación puede ser de seis semanas. Las primeras manifestaciones clínicas se relacionan con una notable necrosis hemorrágica y edema del mediastino. El dolor subesternal puede ser intenso y en las radiografías del tórax se observa un ensanchamiento mediastinal pronunciado. Los derrames pleurales hemorrágicos se presentan después de que se afectan las pleuras; la tos es consecuencia de los efectos del ántrax en la tráquea. Suele presentarse sepsis, y puede haber una diseminación hematogénica hacia el tracto gastrointestinal, causando ulceración intestinal; o bien, hacia meninges, causando meningitis hemorrágica. El índice de mortalidad del ántrax por inhalación es alto en los casos de exposición conocida; y es mayor cuando el diagnóstico no se sospecha desde el inicio de la enfermedad.

Los animales adquieren el ántrax por ingestión de esporas y diseminación de los microorganismos desde el tracto intestinal. Esta vía de transmisión en humanos es muy rara, por eso el ántrax gastrointestinal no es frecuente. Por tanto, el dolor abdominal, el vómito y la diarrea con sangre son signos clínicos poco comunes de ántrax.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Las muestras orgánicas que hay que examinar son el líquido o la pus provenientes de una lesión local, sangre y esputo. Los frotis teñidos de la lesión local o la sangre de los animales muertos generalmente muestra cadenas de grandes bastones grampositivos. El ántrax se puede identificar en frotis secos por técnicas de tinción inmunofluorescentes.

Cuando crecen en placas de agar-sangre, los microorganismos producen colonias no hemolíticas de color gris a blanco de textura rugosa y un aspecto de vidrio esmerilado. Brotes de crecimiento con forma de "comas" (cabeza de Medusa) pueden proyectarse desde la colonia. La tinción de Gram muestra grandes bastones grampositivos. La fermentación de carbohidratos no es útil. Los bacilos del ántrax siempre carecen de motilidad en medio semisólido, mientras los microorganismos no patógenos relacionados (p. ej., *B. cereus*) tienen motilidad tipo "swarming". La inoculación intraperitoneal de cultivos virulentos de ántrax mata ratones o cobayos. La demostración de la cápsula requiere el crecimiento bacteriano en un medio de cultivo con bicarbonato en 5 a 7% de dióxido de carbono. La lisis realizada por un bacteriófago específico de ántrax puede ser útil para identificar el microorganismo.

Se desarrolló un análisis inmunoadsorbente ligado a enzimas (ELISA) para cuantificar la cantidad de anticuerpos dirigidos contra las toxinas edema y letal, aunque esta prueba no se ha estudiado a profundidad. Se debe estudiar el suero en las fases aguda y convaleciente obtenido con cuatro semanas de diferencia entre la primera y la segunda. Un resultado positivo consiste en un cambio de cuatro veces lo normal o un solo título de más de 1:32.

Resistencia e inmunidad

La inmunización para prevenir el ántrax se basa en los experimentos de Luis Pasteur, quien en 1881 demostró que los cultivos crecidos en caldo a 42 a 52 °C durante varios meses perdían mucha de su virulencia y podían inyectarse vivos a ovejas y bovinos sin causar enfermedad; subsecuentemente estos animales mostraron inmunidad. La eficacia de las diferentes vacunas es muy variable. En animales susceptibles se puede inducir inmunidad activa contra el ántrax mediante vacunación con bacilos vivos atenuados, con suspensión de esporas o con antígenos protectores procedentes de filtrados de cultivo. Todos los animales que pastan en terrenos contaminados con ántrax se deben inmunizar cada año contra esta enfermedad.

En EUA, la vacuna contra ántrax disponible para humanos es una preparación precipitada con hidróxido de aluminio del antígeno protector, obtenido a partir de un filtrado estéril de cultivos de una cepa no encapsulada no virulenta. Dos inoculaciones de esta vacuna proporcionan protección significativa contra el ántrax por inhalación en monos *rhesus*. En Rusia se ha utilizado una vacuna a base de esporas vivas atenuadas para su aplicación en humanos en grandes estudios de campo.

Tratamiento

Muchos antibióticos son eficaces contra el ántrax del ser humano, pero el tratamiento debe iniciarse en las primeras etapas. La ciprofloxacina se recomienda para el tratamiento del ántrax. Muchos antibióticos son activos contra *B. anthracis*; la penicilina G, junto con gentamicina o estreptomicina, se ha usado con anterioridad para tratar el ántrax.

En el caso de una exposición potencial a *B. anthracis* como agente utilizado para fines de guerra biológica, la profilaxis con doxiciclina o ciprofloxacina se debe continuar durante cuatro semanas, administrando al mismo tiempo tres dosis de vacuna; o bien, durante ocho semanas si no se cuenta con ésta.

Algunos otros bacilos grampositivos, como *B. cereus*, son resistentes a la penicilina en virtud de la producción de β lactamasa. La doxiciclina, la eritromicina o la ciprofloxacina podrían ser alternativas eficaces para la penicilina.

Epidemiología, prevención y control

El suelo se contamina con esporas del ántrax procedentes de animales muertos, las cuales permanecen viables durante decenios. Las esporas quizá pueden germinar en el suelo a un pH de 6.5 con temperatura apropiada. Los animales de pastoreo infectados a través de mucosas lesionadas perpetúan la cadena de la infección. El contacto con animales infectados o con su cuero, pelos y cerdas es la fuente de infección en humanos. Las medidas de control incluyen: 1) incineración o entierro en cal de los cadáveres de los animales; 2) descontaminación (por lo general por autoclave) de los productos animales; 3) ropa protectora y guantes para manipular materiales potencialmente infectados; y 4) inmunización activa de animales domésticos con vacunas vi-



Figura 12-2. *Clostridium* con tinción de Gram. Se observan bacilos grampositivos individuales (flecha corta). Algunos bacilos tienen esporas terminales (flecha larga).

Toxina

Durante el desarrollo del *C. botulinum* y la autólisis de la bacteria se libera toxina al ambiente. Se conocen siete variedades antigénicas de toxina (A a G). Los tipos A, B y E (y en ocasiones F) son la causa principal de la enfermedad humana. Los tipos A y B se relacionan con varios alimentos, y el tipo E predomina en productos de pesca. El tipo C produce el "cuello blando" en aves; el tipo D, botulismo en mamíferos. La toxina es una proteína con PM 150 000 que se descompone en dos proteínas, una de PM 100 000 y otra de 50 000, unidas mediante un puente disulfuro. La toxina botulínica se absorbe en el intestino y se fija a receptores localizados en las membranas presinápticas de las neuronas motoras del sistema nervioso periférico y nervios craneales. La proteólisis (causada por la cadena ligera de la toxina botulínica) de proteínas SNARE blanco en las neuronas inhibe la liberación de acetilcolina en el sitio de la sinapsis, lo cual provoca contracción muscular y parálisis. Las proteínas SNARE son sinaptobrevina, SNAP 25 y sintaxina. Las toxinas de *C. botulinum* tipos A y E lisan a la proteína unida al sinaptosoma (SNAP-25) con PM 25 000; la toxina B lisa una proteína de membrana unida a la vesícula de sinaptobrevina (SNAP; del inglés, *synaptobrevin vesicle-associated membrane protein*). Las toxinas del *C. botulinum* se encuentran entre las sustancias más tóxicas conocidas: tal vez la dosis mortal para los humanos es de 1 a 2 µg; las toxinas se destruyen por el calor a 100 °C durante 20 min.

Patogenia

Aunque los tipos A y B del *C. botulinum* se han implicado en casos poco comunes de infección de una herida y botulismo, por lo general la enfermedad no es una infección. De hecho, el botulismo es una intoxicación resultado de la in-

gestión de alimentos contaminados con *C. botulinum* productor de toxina. Los causantes más comunes son alimentos sazonados con especias, ahumados, empacados al vacío o enlatados en medio alcalino ingeridos sin cocinar. En estos alimentos germinan las esporas del *C. botulinum* en condiciones anaeróbicas, las formas vegetativas crecen y producen la toxina.

La toxina actúa impidiendo la liberación de acetilcolina en las sinapsis y las uniones neuromusculares (véase líneas arriba). Como consecuencia se produce parálisis flácida. Son típicos el electromiograma y las pruebas de tensión con edrofonio.

Datos clínicos

Los síntomas aparecen de 18 a 24 h después de ingerir el alimento tóxico, éstos comprenden trastornos visuales (falta de coordinación de músculos oculares, visión doble), incapacidad para deglutir y dificultad para hablar; los signos de parálisis bulbar son progresivos y la muerte ocurre por paro respiratorio o cardíaco. En general, los síntomas gastrointestinales no son notables; no hay fiebre. El paciente permanece totalmente consciente hasta poco antes de su muerte; la tasa de mortalidad es alta. Los pacientes que se recuperan no desarrollan antitoxina en la sangre.

En EUA, el botulismo del lactante es tanto o más común que la variante típica de botulismo paralítico relacionada con la ingestión de alimento contaminado por toxinas. En los primeros meses de vida, el lactante presenta falta de apetito, debilidad y signos de parálisis ("bebé flojo"). El botulismo del lactante puede ser una de las causas del síndrome de muerte súbita del lactante. El *C. botulinum* y la toxina botulínica se encuentran en heces, pero no en suero. Se supone que las esporas del *C. botulinum* se encuentran en el alimento del bebé, y producen toxinas en el intestino. La miel se ha implicado como posible vehículo para las esporas. La mayoría de estos lactantes se recuperan con sólo terapéutica de apoyo.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Con frecuencia se puede demostrar la toxina en el suero del paciente y detectarla en residuos de alimentos. Los ratones inyectados por vía intraperitoneal con la toxina mueren rápidamente. En los ratones, el tipo antigénico de la toxina se identifica mediante neutralización con la antitoxina específica. El *C. botulinum* puede desarrollarse a partir de residuos de alimentos y someterse a pruebas para producción de toxina, pero esto rara vez se practica y es discutible su significado. En el botulismo del lactante pueden demostrarse el *C. botulinum* y la toxina en el contenido intestinal, pero no en suero. También puede demostrarse la toxina mediante hemaglutinación pasiva o radioinmunoanálisis.

Tratamiento

Se han preparado potentes antitoxinas para los tres tipos de toxina botulínica en caballos. Como regularmente se desco-

noce el tipo causante de un caso individual, debe administrarse de inmediato antitoxina trivalente (A, B, E) por vía intravenosa, con las precauciones pertinentes. Si es necesario, hay que mantener ventilación adecuada mediante respirador mecánico. Estas medidas reducen la tasa de mortalidad de 65% a menos de 25%.

Epidemiología, prevención y control

Como las esporas de *C. botulinum* se distribuyen ampliamente en el suelo, con frecuencia contaminan verduras, frutas y otros materiales. Un brote ocurrido en un restaurante se relacionó con cebollas fritas. Cuando estos alimentos se enlatan o se conservan de alguna otra manera deben calentarse lo suficiente para asegurar la destrucción de las esporas o hervirse durante 20 min antes de consumirlos. La reglamentación estricta del enlatado comercial ha eliminado principalmente el peligro de que ocurran brotes extensos, pero los alimentos preparados envasados comercialmente han causado muertes. El principal peligro son los alimentos envasados con técnicas domésticas para su conservación, como ejotes, maíz, pimientos, aceitunas y chicharos, así como el pescado ahumado o fresco empacado al vacío en bolsas de plástico. Los alimentos tóxicos pueden estar podridos y rancios, a veces las latas "se inflan"; en ocasiones su apariencia es inofensiva. El riesgo de los alimentos envasados en casa puede reducirse al hervirlos durante más de 20 min antes de consumirlos. En Sudáfrica se emplean toxoides para la inmunización activa del ganado bovino.

La toxina *Botulinum* es considerada como un agente principal para el bioterrorismo y la guerra biológica (véase capítulo 48).

CLOSTRIDIUM TETANI

El *Clostridium tetani*, causante del tétanos, se distribuye en el suelo y en las heces de caballos y otros animales por todo el mundo. Se pueden distinguir varios tipos mediante antígenos flagelares específicos. Todos comparten un antígeno O común (somático), a veces enmascarado, y todos producen el mismo tipo antigénico de neurotoxina, la tetanospasmina.

Toxina

Las células vegetativas de *C. tetani* producen la toxina tetanospasmina (PM 150 000), que es descompuesta por una proteasa bacteriana en dos péptidos (PM 50 000 y 100 000), unidos mediante un puente disulfuro. La toxina inicialmente se fija a los receptores de las membranas presinápticas de las neuronas motoras; después migran a través del sistema de transporte axónico retrógrado a los cuerpos celulares de estas neuronas, hasta llegar a la médula espinal y al tallo cerebral. La toxina se difunde a las terminales de las células inhibitorias, incluyendo las interneuronas glicinérgicas y las neuronas secretoras de ácido aminobutírico a partir del tallo cerebral. La toxina degrada la sinaptobrevina, una proteína requerida como muelle para las vesículas de neurotransmisores localizadas en la mem-

brana presináptica. La liberación de la glicina y del ácido γ -aminobutírico inhibidores se bloquea y las neuronas motoras no se inhiben; el resultado es hiperreflexia, espasmos musculares y parálisis espástica. Cantidades extremadamente pequeñas de la toxina pueden ser letales para los humanos.

Patogenia

El *C. tetani* no es un microorganismo invasor. La infección permanece estrictamente localizada en el sitio del tejido desvitalizado (herida, quemadura, lesión, muñón umbilical, sutura quirúrgica) en la cual se han introducido las esporas. El volumen del tejido infectado es pequeño y la enfermedad es una toxemia casi en su totalidad. La germinación de esporas y el desarrollo de microorganismos vegetativos productores de toxina se favorecen por: 1) tejido necrosado, 2) sales de calcio y 3) infecciones piógenas acompañantes; todo esto ayuda a establecer un potencial de óxido-reducción bajo.

La toxina liberada por las células vegetativas puede alcanzar el sistema nervioso central y fijarse con rapidez a los receptores en la médula espinal y en el tallo cerebral y ejercer las acciones descritas antes.

Datos clínicos

El periodo de incubación puede variar de 4 a 5 días hasta varias semanas. La enfermedad se caracteriza por contracciones tónicas de los músculos voluntarios. Con frecuencia, los espasmos musculares afectan primero las partes lesionadas e infectadas y luego los músculos del maxilar inferior (*trismus*); contráidos a tal grado que el paciente no puede abrir la boca. Gradualmente, otros músculos voluntarios también se afectan y se producen espasmos tónicos. Cualquier estímulo externo puede desencadenar un espasmo muscular tetánico generalizado. La muerte se presenta con el paciente en estado de conciencia plena, y el dolor puede ser intenso. Por lo general, el deceso se produce porque se afecta la respiración. La tasa de mortalidad es muy alta en el tétanos generalizado.

Diagnóstico

El diagnóstico se basa en el cuadro clínico y el antecedente de alguna lesión, aunque sólo 50% de los pacientes con tétanos presentan alguna lesión que amerita atención médica. El diagnóstico diferencial del tétanos se establece principalmente con el envenenamiento con estricnina. El cultivo anaeróbico de los tejidos procedentes de heridas contaminadas puede producir *C. tetani*, pero nunca debe esperarse el resultado de esta prueba para iniciar la administración de la antitoxina con fines preventivos o terapéuticos. Además de aislar el *C. tetani*, se debe verificar la producción de toxina y su neutralización con una antitoxina específica.

Prevención y tratamiento

Los resultados del tratamiento del tétanos no siempre son satisfactorios; por tanto, es más importante la prevención.

la cual depende de: 1) inmunización activa con toxoide; 2) atención apropiada de heridas contaminadas con tierra, etc.; 3) empleo profiláctico de la antitoxina, y 4) la administración de penicilina.

La administración intramuscular de 250 a 500 unidades de antitoxina humana (inmunoglobulina tetánica) suministra protección sistémica adecuada (0.01 unidades o más por mililitro de suero) durante 2 a 4 semanas. Esto neutraliza la toxina que no ha sido fijada al tejido nervioso. La inmunización activa con toxoide tetánico debe acompañarse con profilaxis con antitoxina.

A los pacientes con síntomas de tétanos se les debe administrar relajantes musculares, sedantes y proporcionar ayuda ventilatoria. A veces se aplican dosis muy grandes de antitoxina (3 000 a 10 000 unidades de inmunoglobulina tetánica) por vía intravenosa en un intento por neutralizar la toxina aún no unida al tejido nervioso. Sin embargo, es dudosa la eficacia de la antitoxina para el tratamiento, salvo en el tétanos neonatal, donde a veces puede salvar la vida del recién nacido.

El desbridamiento quirúrgico tiene importancia vital porque retira el tejido necrosado indispensable para la proliferación de los microorganismos. El oxígeno hiperbárico no ha demostrado su efecto.

La penicilina inhibe en gran medida el crecimiento del *C. tetani* y detiene la producción de la toxina. Los antibióticos también pueden controlar las infecciones piógenas acompañantes.

Si una persona previamente inmunizada sufre una herida potencialmente peligrosa, se le debe inyectar una dosis adicional de toxoide para estimular la producción de antitoxina. Esta inyección "de refuerzo" con toxoide puede acompañarse de una dosis de antitoxina si el paciente no ha tenido inmunización o refuerzos recientes, o cuando se desconocen los antecedentes de las inmunizaciones.

Control

El tétanos es una enfermedad prevenible. La inmunización universal activa con toxoide tetánico debe ser obligatoria. Éste se produce por destoxificación de la toxina con formalina y luego concentración de la misma. Se emplean toxoides adsorbidos en sales de aluminio. El ciclo inicial de inmunización incluye tres inyecciones, seguidas por otra dosis casi un año después. La inmunización inicial debe efectuarse en todos los niños durante el primer año de vida. Al entrar a la escuela se administra una inyección de toxoide como "refuerzo". A partir de entonces, los "refuerzos" se pueden aplicar con intervalos de 10 años para mantener concentraciones séricas mayores de 0.01 unidades de antitoxina por mililitro. En los niños pequeños, el toxoide tetánico con frecuencia se combina con toxoide diftérico y vacuna *pertussis*.

No es posible aplicar medidas de control debido a la vasta diseminación del microorganismo en el suelo y a la supervivencia prolongada de sus esporas.

CLOSTRIDIOS QUE PRODUCEN INFECCIONES INVASORAS

Diferentes clostridios productores de toxina (*Clostridium perfringens* y otros clostridios relacionados) (figura 12-3)

pueden causar infección invasora (incluso **mionecrosis** y **gangrena gaseosa**) si se introducen en los tejidos dañados. Alrededor de 30 especies de clostridios pueden producir este efecto, pero el más común en las enfermedades invasoras es el *Clostridium perfringens* (90%). Una enterotoxina del *C. perfringens* es causa común de envenenamiento alimentario.

Toxinas

Los clostridios invasores producen gran variedad de toxinas y enzimas que favorecen la propagación de la infección. Muchas de estas toxinas tienen propiedades mortales, necrosantes y hemolíticas. En algunos casos son propiedades diferentes de una sola sustancia; en otros se deben a diferentes entidades químicas. La toxina α del *C. perfringens* tipo A es una lecitinasa y su acción mortal es proporcional a la tasa a la cual desdobla la lecitina (elemento importante de las membranas celulares) para convertirla en fosforilcolina y diglicéridos. La toxina ϵ tiene efectos hemolítico y necrosante similares, pero no es una lecitinasa. También se produce DNasa y hialuronidasa, una colagenasa que digiere la colágena del tejido subcutáneo y del músculo.

Algunas cepas del *C. perfringens* producen una potente enterotoxina, en especial cuando crecen en platillos de carne. Cuando se ingieren más de 10^8 células vegetativas y esporulan en el intestino, se forman enterotoxinas. La enterotoxina es una proteína (PM 35 000) que puede ser un componente no esencial de la capa de la espora. Es

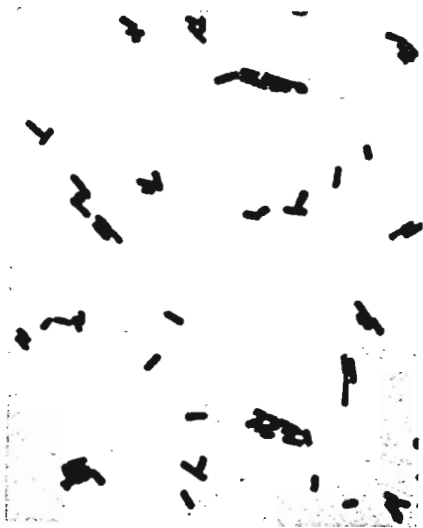


Figura 12-3. Bacilo de la gangrena gaseosa. El *C. perfringens* típicamente no forma esporas cuando crece sobre los medios empleados en el laboratorio.

distinta de las otras toxinas del *Clostridium*, e induce diarrea intensa en 6 a 18 h. La acción de la enterotoxina del *C. perfringens* incluye marcada hipersecreción en el yeyuno e ileon, con pérdida de fluidos y electrólitos en la diarrea. Síntomas mucho menos frecuentes son náuseas, vómito y fiebre. Esta enfermedad es similar a la producida por el *B. cereus* y tiende a ser autolimitada.

Patogenia

En las infecciones clostridiales invasoras, esporas de los clostridios alcanzan los tejidos por contaminación de las regiones traumatizadas (heces, suelo) o desde el intestino. Las esporas germinan en ambiente con potencial de óxido-reducción bajo; las células vegetativas se multiplican, fermentan los carbohidratos presentes en el tejido y producen gas. La distensión tisular y la interferencia con el riego sanguíneo, junto con la secreción de toxina necrosante y de hialuronidasa, favorecen la propagación de la infección. La necrosis tisular se extiende y da oportunidad a las bacterias de crecer aún más, causa anemia hemolítica, y en último término, toxemia grave y muerte.

En la gangrena gaseosa (mionecrosis por clostridio), la regla es una infección mixta. Además de los clostridios toxígenos también suelen encontrarse clostridios proteolíticos, varios cocos y microorganismos gramnegativos. El *C. perfringens* se presenta en el conducto genital de 5% de las mujeres. Antes de la legalización del aborto en E.U.A., las infecciones uterinas por clostridio eran comunes después de abortos instrumentales. Con frecuencia, la bacteriemia por clostridio ocurre en pacientes con neoplasia. En Nueva Guinea, el *C. perfringens* de tipo C produce enteritis necrosante a veces con altas tasas de mortalidad en los niños. La inmunización con toxoide tipo C parece tener valor preventivo.

Datos clínicos

En 1 a 3 días la infección se propaga desde una herida contaminada (p. ej., fractura compuesta, útero posparto) y produce crepitación en el tejido subcutáneo y músculo, secreción fétida, necrosis rápidamente evolutiva, fiebre, hemólisis, toxemia, choque y muerte. El tratamiento se basa en la intervención quirúrgica temprana (amputación) y la administración de antitoxina. Antes del desarrollo de la terapéutica específica el único tratamiento era la amputación temprana. A veces, la infección sólo produce fascitis o celulitis anaeróbicas.

La intoxicación alimentaria por *C. perfringens* generalmente acontece después de ingerir un gran número de clostridios desarrollados en platillos de carne a temperatura ambiente. Las toxinas se forman al esporular los microorganismos en el intestino; en general, la diarrea se inicia sin vómito ni fiebre en 6 a 18 h. La enfermedad sólo dura 1 o 2 días.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Las muestras consisten en material procedente de heridas, pus, tejido. La presencia de bacilos grandes grampositivos

y formadores de esporas en los frotis teñidos con tinción de Gram sugiere gangrena gaseosa por clostridios; regularmente no se encuentran esporas.

El material se inocula en un medio con carne molida-glucosa y en medio con tioglicolato, y sobre placas agar sangre incubadas en condiciones anaeróbicas. El crecimiento de uno de los medios se transfiere a la leche. Un coágulo disgregado por gas en 24 h sugiere *C. perfringens*. Una vez obtenidos cultivos puros por selección de colonias a partir de placas de sangre incubadas en condiciones anaeróbicas, se pueden identificar los clostridios por reacciones bioquímicas (diferentes azúcares en tioglicolato, acción sobre la leche), hemólisis y formación de colonias. La actividad de lecitinas se evalúa por el precipitado formado alrededor de las colonias sobre un medio con yema de huevo. La identificación final se basa en la producción y neutralización de las toxinas por una antitoxina específica. El *C. perfringens* rara vez produce esporas cuando se cultiva sobre agar en el laboratorio.

Tratamiento

El aspecto más importante del tratamiento es el desbridamiento quirúrgico oportuno y amplio de la región afectada, con escisión de todo el tejido desvitalizado en el que pueden crecer los microorganismos. Al mismo tiempo debe iniciarse la administración de antimicrobianos, sobre todo penicilina. El oxígeno hiperbárico puede ser útil en el tratamiento médico de la infección de tejidos por clostridio. Se dice que "destoxifica" pronto a los pacientes.

Se dispone de antitoxinas contra las toxinas del *C. perfringens*, *Clostridium novyi*, *Clostridium histolyticum* y *Clostridium septicum*, por lo general en forma de inmunoglobulinas concentradas. También se emplea antitoxina polivalente (con anticuerpos a varias toxinas). Estas antitoxinas se administran a veces a personas con heridas contaminadas y con mucho tejido desvitalizado, pero no hay evidencia de su eficacia. La intoxicación alimentaria causada por la enterotoxina del *C. perfringens* sólo requiere tratamiento sintomático.

Prevención y control

Las mejores medidas preventivas disponibles son limpieza oportuna y adecuada de las heridas contaminadas, desbridamiento quirúrgico y administración de antimicrobianos dirigidos contra el *Clostridium* (p. ej., penicilina). No se debe confiar exclusivamente en las antitoxinas. Aunque también se han preparado toxoides para inmunización activa, aún no se emplean en la práctica.

CLOSTRIDIUM DIFFICILE Y ENFERMEDAD DIARREICA

Colitis pseudomembranosa

La colitis pseudomembranosa se diagnostica por la detección de una o ambas toxinas del *C. difficile* en las heces y

por ob
croabs
admin
a vece
diarrea
frecue
y f
colitis
amplic
piendo
trando
L
ción de
nas. La
citotóx
enteroc
tente c
de pac
cepas c
rentiem

Diarre

Con fre
una var
diarrea
medad
dome
diarrea

- Un
llevar
y dif
serv
La n
part
los.
el e
nerv
¿Cu
A. T
B. E
C. B
D. S
E. In

- De l
facto
A. A
B. L
C. P
D. U
c
E. L

- Un h
fract
accio
tiene
tació

por observación endoscópica de pseudomembranas o microabscesos en pacientes con diarrea y a quienes se les han administrado antibióticos. Las placas y los microabscesos a veces se localizan en una sola región del intestino. La diarrea puede ser acuosa o sanguinolenta, y el paciente con frecuencia presenta dolor abdominal tipo cólico, leucocitosis y fiebre. Se ha implicado a muchos antibióticos en la colitis pseudomembranosa, pero la causa más común son ampicilina y clindamicina. La enfermedad se trata interrumpiendo la administración del antibiótico agresor y administrando metronidazol o vancomicina por vía oral.

La administración de antibióticos da lugar a la proliferación del *C. difficile* resistente al fármaco que produce dos toxinas. La toxina A, una potente enterotoxina con cierta actividad citotóxica que se une al borde en cepillo de la membrana del enterocito sobre los sitios receptores. La toxina B es una potente citotoxina. Ambas toxinas se encuentran en las heces de pacientes con colitis pseudomembranosa. No todas las cepas del *C. difficile* producen toxinas, y los genes *tox* aparentemente no se transportan en plásmidos ni en fagos.

Diarrea relacionada con antibióticos

Con frecuencia, la administración de antibióticos produce una variante de diarrea de leve a moderada, denominada diarrea relacionada con antibióticos. En general, esta enfermedad es menos grave que la forma típica de colitis pseudomembranosa. Hasta 25% de los casos de este tipo de diarrea puede atribuirse al *C. difficile*.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Un ama de casa que vive en una pequeña granja es llevada a la sala de urgencias por presentar doble visión y dificultad para hablar. En las dos horas anteriores observó que tenía la boca seca y debilidad generalizada. La noche anterior sirvió ejotes enlatados en casa como parte de la comida. Ella probó los ejotes antes de hervirlos. Ningún otro miembro de la familia está enfermo. En el examen, hay parálisis descendente simétrica de los nervios craneales, extremidades superiores y torso. ¿Cuál de los siguientes diagnósticos es el correcto?
 - Tétanos
 - Envenenamiento con estricnina
 - Botulismo
 - Sobredosis de morfina
 - Intoxicación con ricino
- De lo que se menciona a continuación, ¿cuál es un factor de virulencia importante de *Bacillus anthracis*?
 - Antígeno protector
 - Lipopolisacárido
 - Pili
 - Una toxina que inhibe al factor de elongación de la cadena peptídica EF-2
 - Lecitinas
- Un hombre joven sufre lesión mayor del tejido blando y fracturas abiertas en la pierna derecha después de un accidente de motocicleta. Un día después, el paciente tiene temperatura de 38 °C, taquicardia, sudación y agitación nerviosa. En el examen la pierna está inflamada

y tensa, con drenado de líquido seroso fino y oscuro de las heridas. La piel de la pierna está fría, pálida, blanca y brillante. Se puede sentir crepitación en la pierna. El hematocrito del paciente es de 20% (alrededor de 50% del normal) en tanto que su hemoglobina circulante es normal. Su suero se observa libre de hemoglobina. ¿Cuál de los siguientes microorganismos tiene más probabilidades de ser el causante de esta infección?

- Clostridium tetani*
- Staphylococcus aureus*
- Escherichia coli*
- Bacillus anthracis*
- Clostridium perfringens*

- Para el paciente descrito en la pregunta 3, ¿cuál es la causa de la hemólisis?
 - Factor de edema
 - Tetanospasmina
 - Lecitinas
 - Estreptolisina O
 - Toxina B
- El periodo de incubación conocido para el ántrax por inhalación puede ser de hasta:
 - Dos días
 - Diez días
 - Tres días
 - Seis semanas
 - Seis meses
- Un alimento que por lo común se relaciona con la intoxicación alimenticia por *Bacillus cereus* es
 - Arroz frito
 - Papas horneadas
 - Arroz caliente recién cocido al vapor
 - Ejotes
 - Miel
- ¿A cuál de las siguientes funciones bloquea la toxina tetánica (tetanospasmina) que se difunde a las terminales de las células inhibitoras en la médula espinal y el tallo encefálico?
 - Liberación de acetilcolina
 - Segmentación de proteínas SNARE
 - Liberación de glicina inhibitora y ácido y aminobutírico
 - Liberación de antígeno protector
 - Activación de esterasa de acetilcolina
- Un hombre de 45 años de edad que emigró a EUA hace cinco años experimentó una lesión por punción en la parte inferior de su pierna derecha cuando su podadora giratoria lanzó un trozo de madera hacia la pierna. Seis días después, observó espasmos en los músculos de la pierna derecha; en el día 7, aumentaron los espasmos. Hoy, día 8, experimentó espasmos musculares generalizados, notorios en particular en los músculos de la mandíbula. No pudo abrir la boca y llegó a la sala de urgencias. En el departamento de urgencias se observa a un hombre alerta y recostado en la cama en completa calma. Se escucha un portazo en la sala y de forma repentina el paciente manifiesta espasmo muscular generalizado con arqueado de dorso. De lo que se menciona a continuación, ¿cuál es el diagnóstico correcto?
 - Botulismo
 - Ántrax
 - Gangrena gaseosa

- D. Tétanos
E. Síndrome de choque tóxico
9. ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca del tétanos y el toxoide tetánico es correcto?
A. La toxina tetánica mata a las neuronas
B. La inmunización con toxoide tetánico tiene una proporción de falla de 10%
C. El índice de mortalidad del tétanos generalizado es < 1%
D. Por lo común la visión doble es el primer signo de tétanos
E. La toxina tetánica actúa sobre la sinapsis de inter-neurona inhibidora
10. Un hombre de 67 años de edad fue operado por un divertículo roto de colon sigmoide con un absceso. Se hizo una reparación y se drenó el absceso. Se trató al paciente con gentamicina intravenosa y ampicilina; 10 días más tarde y cuatro días después de haber sido

dado de alta del hospital, el paciente manifestó malestar general, fiebre y dolor abdominal con calambres. Tuvo varios episodios de diarrea. En el análisis de heces se observó sangre y la presencia de células polimorfonucleares. En la sigmoidoscopia la mucosa resultó eritematosa y al parecer estaba inflamada; además, hubo muchas placas abultadas de color blanco amarillento de 4 a 8 mm de diámetro. ¿Cuál de las siguientes bacterias tiene más probabilidades de ser la causante del problema del paciente?

- A. Enterotoxina de *Staphylococcus aureus*
B. Toxina de *Bacillus cereus*
C. Toxinas de *Clostridium difficile*
D. Toxina de *Clostridium perfringens*
E. *Escherichia coli* enterohemorrágica

Respuestas: 1 = C; 2 = A; 3 = E; 4 = C; 5 = D; 6 = A; 7 = C; 8 = D; 9 = E; 10 = C

REFERENCIAS

- Allen SDS, Emery CL, Lyerty DM: *Clostridium*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8^ª ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2003.
- Dixon TC et al.: Anthrax. *N Engl J Med* 1999;341:815.
- Drobniewski FA: *Bacillus cereus* and related species. *Clin Microbiol Rev* 1993;6:324.
- Logan NA, Turnbull PCB: *Bacillus* and other aerobic endospore-forming bacteria. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8^ª ed. Murray PR et al (editors). ASM Press, 2003.
- Shapiro RL et al.: Botulism in the United States: a clinical and epidemiologic review. *Ann Intern Med* 1998; 129:221
- Thielman NM: Antibiotic-associated colitis. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5^ª ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.

Bacilos grampositivos no formadores de esporas: *Corynebacterium*, *Propionibacterium*, *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Actinomyces* y especies relacionadas

Los bacilos grampositivos no formadores de esporas constituyen un grupo de diversas bacterias. Muchos miembros del género *Corynebacterium* y sus homólogos anaerobios, las especies de *Propionibacterium*, pertenecen también a la flora normal de la piel y las mucosas de los humanos. Otras corinebacterias se encuentran en animales y plantas. El *Corynebacterium diphtheriae* es el miembro más importante del grupo, puesto que es capaz de producir una potente exotoxina causante de la difteria en humanos. La *Listeria monocytogenes* y el *Erysipelothrix rhusiopathiae* se encuentran principalmente en animales y en ocasiones causan enfermedad grave en los humanos.

Las especies de *Corynebacterium* y las bacterias relacionadas tienden a presentar forma de raqueta o irregular; aunque no todas las especies aisladas son irregulares, el término "bacteria corineforme" es conveniente para denotar el grupo. Estas bacterias poseen un gran contenido de guanina más citosina, e incluyen los géneros *Corynebacterium*, *Arcanobacterium*, *Brevibacterium*, *Mycobacterium* y otros (cuadro 13-1). El *Actinomyces* y el *Propionibacterium* se clasifican como anaerobios, pero algunos aislados crecen bien en condiciones aerobias (aerotolerantes) y deben diferenciarse de las bacterias corineformes aerobias. Otros bacilos grampositivos no formadores de esporas tienen forma más regular y contenido menor de guanina más citosina. Los géneros incluyen *Listeria* y *Erysipelothrix*; estas bacterias se relacionan de manera más estrecha con especies de *Lactobacillus* anaerobios (que a veces crecen bien en el aire), con *Bacillus* y especies de *Clostridium* formadoras de esporas (y cocos grampositivos de las especies *Staphylococcus* y *Streptococcus*) que con bacterias corineformes. Los géneros de los bacilos grampositivos importantes desde el punto de vista médico se presentan en el cuadro 13-1 e incluyen algunos géneros anaerobios formadores de esporas. Las bacterias anaerobias se estudian de manera breve en este capítulo y en el 22.

No existe un método unificado para identificar los bacilos grampositivos. Algunos laboratorios están equipados para medir el contenido de guanina más citosina. El crecimiento sólo en condiciones anaerobias implica que el aislado es un anaerobio, pero muchos aislados de especies de *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Propionibacterium* y otros, son aerotolerantes. La mayor parte de los aislamientos de las especies de *Mycobacterium* de crecimiento rápido y de las especies *Nocardia* y *Rhodococcus* son acidorresistentes y, por tanto, fáciles de distinguir de las bacterias corineformes. Muchos, pero no todos los géneros de *Bacillus* y *Clostridium* producen esporas y la presencia de éstas distingue con rapidez la bacteria aislada de las corineformes; sin embargo, el *Clostridium perfringens* y otros *Clostridium* filamentosos generalmente no producen esporas sobre medios de cultivo de laboratorio. Para determinar si una bacteria aislada es un lactobacilo (o *Propionibacterium*) a veces se requiere cromatografía líquida o de gas para medir el ácido láctico (o el ácido propiónico) y productos metabólicos, pero esto en general no es práctico. Otras pruebas que se emplean para ayudar a identificar los aislamientos de bacilos grampositivos no formadores de esporas, como miembros de un género o especie, incluyen la producción de catalasa, de indol, reducción del nitrato y fermentación de carbohidratos, entre otras.

CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE

Morfología e identificación

Las corinebacterias tienen de 0.5 a 1 µm de diámetro y varios micrómetros de longitud. Por lo regular, muestran un extremo anormalmente abultado que les confiere aspecto de "raqueta" (figura 13-1). Dentro del bacilo se observan gránulos distribuidos de manera irregular (casi siempre cerca de los polos) teñidos de modo intenso con colorantes de anilina (gránulos

Cuadro 13-1. Algunos de los bacilos grampositivos más comunes de importancia médica

Bacilos grampositivos aerobios con alto contenido de G + C y forma irregular ¹	Bacilos grampositivos aerobios con menor contenido de G + C y forma más regular
Géneros Comunes <i>Corynebacterium</i> No comunes <i>Arcanobacterium</i> <i>Rhodococcus</i> <i>Rothia</i> Muchos otros géneros de flora ambiental y de piel Anaerobios aerotolerantes <i>Actinomyces</i> <i>Propionibacterium</i>	Géneros Comunes <i>Listeria</i> <i>Erysipelothrix</i> <i>Gardnerella</i> Anaerobios aerotolerantes/anaerobios estrictos <i>Lactobacillus</i> <i>Clostridium</i> (formador de esporas) (capítulo 12) Aerobios <i>Bacillus</i> (formador de esporas) (capítulo 12)
Patógeno principal: <i>Corynebacterium diphtheriae</i> Aislados comunes o clínicamente importantes del género <i>Corynebacterium</i> <i>C. amycolatum</i> <i>C. minutissimum</i> <i>C. jeikeium</i> <i>C. pseudodiphtheriticum</i> <i>C. striatum</i> <i>C. urealyticum</i> <i>C. xerosis</i>	Patógenos principales <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>

G + C = base guanina más citosina.

¹ Bacterias corineformes médicamente importantes.

metacromáticos), que dan al bacilo aspecto de cuenta de rosario. En los frotis teñidos, las corinebacterias individuales tienden a situarse de modo paralelo o en ángulo agudo entre sí. En cultivo rara vez se observa una verdadera ramificación.

En agar sangre, las colonias del *C. diphtheriae* son pequeñas, granulares, de color gris. con bordes irregulares, y a veces presentan pequeñas zonas de hemólisis. En agar con telurito de potasio las colonias tienen color marrón a negro, con un halo marrón-negro debido a que el telurito se reduce dentro de la célula (estafilococos y estreptococos también pueden producir colonias negras). Se han identificado ampliamente cua-

tro biotipos del *C. diphtheriae*: *gravis*, *mitis*, *intermedius* y *belfanti*. Estas variantes se clasifican con base en características del crecimiento, como morfología de las colonias, reacciones bioquímicas y gravedad de la enfermedad producida por la infección. Muy pocos laboratorios de referencia caracterizan el biotipo; la incidencia de difteria se ha reducido mucho y la interrelación entre gravedad de la enfermedad y variedad biológica no es importante en el manejo clínico o de salud pública de casos clínicos o de brotes. En caso de un brote se pueden emplear, si es necesario, métodos inmunológicos y moleculares para tipificar los *C. diphtheriae* aislados.

El *C. diphtheriae* y otras corinebacterias crecen en condiciones aerobias sobre casi todos los medios ordinarios de laboratorio. El *Propionibacterium* es anaerobio. En el medio de Loeffler con suero, las corinebacterias crecen con mucha mayor facilidad que otros microorganismos de vías respiratorias, y en los frotis la morfología de los microorganismos es característica.

Las corinebacterias tienden al pleomorfismo respecto de su morfología microscópica y la de sus colonias. Cuando algunos microorganismos diftéricos no tóxicos se infectan con bacteriófago procedente de ciertos bacilos diftéricos tóxicos, la progenie de la bacteria expuesta resulta lisogénica y toxigénica, y después esta característica se hereda. Cuando se cultiva seriamente, el bacilo diftérico toxígeno en antisuero específico contra el fago templado que porta, tiende a convertirse en no toxígeno. Por tanto, la adquisición de fagos conduce a la toxigenicidad (conversión lisogénica). La verdadera producción de toxina tal vez sólo ocurre cuando el profago del *C. diphtheriae* lisogénico se induce y causa lisis celular. En tanto que la toxigenicidad está bajo el control del gen originario del fago, la invasividad se encuentra bajo control de genes bacterianos.

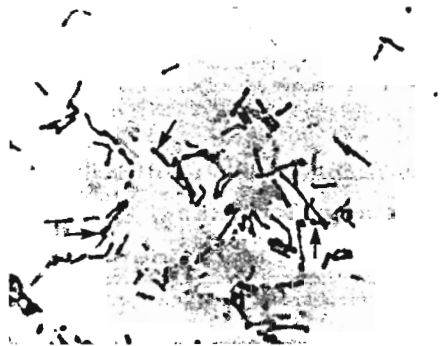


Figura 13-1. *Corynebacterium diphtheriae* procedente de medio Pai y teñido con azul de metileno. Las flechas indican extremos en forma de raqueta de algunas de las bacterias.

Patc

El C.
Se pr
sobre
Se pr
ratoria
los ba
la piel

T
mism
de est
ción d
μg/ml
me a C
ción d
de am
de car
ducción

L
62 000
puente
mentos
independ
A al in
nientos
medios
por inat
es neces
ferencia
ribosom
EF-2 y
más un
Se supo
causa la
rica. En
una exo

Patolo

La toxin
trucción
epitelio
eritrocito
membra
faringe
expone
Los gang
puede ob
diftérico
membra
distancia
ción gras
nales, a
también
sis del pa

La
palmente
una heric
ción de to

Patogenia

El *C. diphtheriae* es el principal patógeno humano del grupo. Se presenta en la naturaleza en vías respiratorias, heridas o sobre la piel de personas infectadas o de portadores normales. Se propaga por gotas microscópicas de las secreciones respiratorias o por contacto con individuos susceptibles; después los bacilos crecen sobre las mucosas o en las excoiraciones de la piel y los bacilos tóxicos comienzan a producir toxina.

Todo *C. diphtheriae* toxígeno es capaz de elaborar la misma exotoxina causante de enfermedad. La producción de esta toxina *in vitro* depende, sobre todo, de la concentración de hierro. La producción de toxina es óptima con 0.14 µg/mL de hierro en el medio, pero prácticamente se suprime a 0.5 µg/mL. Otros factores que influyen en la producción de la toxina *in vitro* son presión osmótica, concentración de aminoácidos, pH y disponibilidad de fuentes adecuadas de carbono y nitrógeno. Los factores que controlan la producción de toxina *in vivo* aún no se comprenden bien.

La toxina diftérica es un polipéptido termolábil (PM 62 000), y mortal en dosis de 0.1 µg/kg. Cuando se rompen los puentes disulfuro la molécula puede escindirse en dos fragmentos. El fragmento B (PM = 38 000) no muestra actividad independiente, pero es necesario para transportar el fragmento A al interior de la célula. El fragmento A impide el alargamiento de la cadena de polipéptido, a condición de que en el medio se encuentre nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), por inactivación del factor de alargamiento EF-2. Este factor es necesario para la translocación del polipeptidil-RNA de transferencia desde el sitio aceptor hasta el sitio donador sobre el ribosoma eucariote. El fragmento A de la toxina inactiva el EF-2 y cataliza una reacción que produce nicotinamida libre más un complejo inactivo de adenosina difosforribosilada-EF-2. Se supone que la interrupción brusca de la síntesis de proteínas causa la necrosis y los efectos neurotóxicos de la toxina diftérica. En cepas de *Pseudomonas aeruginosa* se puede producir una exotoxina con un modo de acción similar.

Patología

La toxina diftérica se absorbe en las mucosas y provoca la destrucción del epitelio y la respuesta inflamatoria superficial. El epitelio necrosado queda embebido en un exudado de fibrina, eritrocitos y leucocitos, de modo que se forma una "pseudomembrana" de color grisáceo, por lo general sobre amígdalas, faringe o laringe. Todo intento de retirar la pseudomembrana expone y desgarrar los capilares y, por tanto, causa sangrado. Los ganglios linfáticos regionales del cuello se hipertrofian y puede observarse edema notable en todo el cuello. El bacilo diftérico continúa activamente la producción de toxina en la membrana. Dicha toxina se absorbe y produce daño tóxico a distancia, en particular, degeneración parenquimatosa, infiltración grasa y necrosis en miocardio, hígado, riñones y suprarrenales, a veces acompañado de hemorragia visible. La toxina también produce daño nervioso y con frecuencia causa parálisis del paladar blando, músculos oculares o extremidades.

La difteria en heridas o sobre la piel se observa principalmente en los trópicos. Pueden formarse membranas sobre una herida infectada que no cicatriza. Sin embargo, la absorción de toxina generalmente es leve, y los efectos sistémicos,

insignificantes. La pequeña cantidad de toxina que se absorbe durante la infección cutánea promueve el desarrollo de anticuerpos antitoxina. La "virulencia" del bacilo diftérico se debe a su capacidad para establecer la infección, crecer con rapidez, y luego elaborar casi de inmediato la toxina que se absorbe eficientemente. El *C. diphtheriae* no necesita ser toxígeno para establecer la infección localizada—en nasofaringe o piel, por ejemplo—, pero las cepas no tóxicas no producen efectos tóxicos localizados o sistémicos. El *C. diphtheriae* no invade activamente tejidos profundos y prácticamente nunca penetra a la circulación sanguínea.

Datos clínicos

Cuando la inflamación diftérica se inicia en el aparato respiratorio, en general se desarrollan molestias faríngeas y fiebre. Pronto se presentan postración y disnea debido a la obstrucción causada por la membrana. Esta obstrucción puede incluso producir asfixia si no se atiende rápidamente por intubación o traqueostomía. Las irregularidades del ritmo cardíaco indican daño al corazón. Más tarde, pueden aparecer dificultades en visión, habla, deglución o movimientos de brazos o piernas. Todas estas manifestaciones tienden a ceder de manera espontánea.

En general, la variedad *gravis* tiende a producir enfermedad más severa que la variedad *mitis*, pero todos los tipos pueden producir enfermedad similar.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Sirven para confirmar la impresión clínica y tienen significado epidemiológico. **Nota:** nunca debe retrasarse el tratamiento específico en espera del informe de laboratorio si el cuadro clínico muestra evidencias de difteria.

Deben obtenerse frotis de lesiones nasales, faríngeas o de otras regiones bajo sospecha, antes de administrar antimicrobianos. Los frotis teñidos con azul de metileno alcalino o tinción de Gram muestran bacilos en un arreglo característico en forma de rosario.

Inocular una placa de agar sangre (para excluir estreptococo hemolítico), un agar inclinado de Loeffler y una placa de telurito (p. ej., agar cistinatelurito o medio Tinsdale modificado) e incubar todos a 37 °C. Salvo que la toxina pueda inocularse rápidamente, debe mantenerse humedecido con suero de caballo, de modo que los bacilos permanezcan viables. En 12 a 18 h, el agar inclinado de Loeffler puede producir microorganismos con morfología característica "semejante a difteria". En 36 a 48 h, las colonias sobre el medio de telurito están lo bastante definidas para reconocer al *C. diphtheriae*.

Un supuesto aislado de *C. diphtheriae* debe estar sujeto a pruebas de toxigenicidad. Éstas se llevan a cabo sólo en laboratorios de salud pública de referencia. Hay varios métodos, como los siguientes:

1. Un disco de papel filtro que contiene la antitoxina se coloca en una placa de agar. Con los cultivos en los que probará la toxigenicidad se forman rayas en la placa junto al disco. Después de 48 h de incubación, la antitoxina que se difunde desde el disco de papel ha precipitado la

toxina que se difunde desde los cultivos toxigénicos y ha dado como resultado bandas de precipitado entre el disco y el desarrollo bacteriano. Éste es el método de Elek modificado descrito por la Unidad de Referencia de Difteria de la OMS.

- Se han descrito métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa para la detección del gen de la toxina de difteria (*tox*). Los estudios de PCR para *tox* también se pueden usar de forma directa en muestras de pacientes antes de que estén disponibles los resultados del cultivo. Un cultivo positivo confirma un examen de PCR positivo. Un cultivo negativo después del tratamiento con antibióticos junto con un análisis de PCR positivo hace pensar que el paciente probablemente tiene difteria.
- El análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas se puede usar para detectar toxina de difteria a partir de aislados de *C. diphtheriae*.
- Un estudio de tira inmunocromatográfica permite detectar la toxina de difteria en cuestión de horas.

Desde el punto de vista histórico, se ha demostrado la toxicidad de un aislado de *C. diphtheriae* al inyectar dos conejillos de Indias con aislado emulsificado. Si sobrevive el conejillo de Indias protegido con la antitoxina de difteria y muere el que no está protegido, se considera que el aislado es toxigénico. La tecnología más moderna ha sustituido en gran parte esta prueba.

Resistencia e inmunidad

Puesto que la difteria se debe principalmente a la acción de la toxina formada por el microorganismo y no a la invasión por dicho organismo, la resistencia a la enfermedad depende en especial de la disponibilidad de antitoxina neutralizante específica en la circulación sanguínea y los tejidos. En general, se sabe que la difteria sólo aparece en personas que no poseen antitoxina (o menos de 0.01 unidad Lf/mL). La valoración de inmunidad a la toxina diftérica en pacientes individuales se hace mejor revisando su cartilla de inmunizaciones con toxoide diftérico y su inmunización primaria o de refuerzo, si es necesario.

Tratamiento

El tratamiento de la difteria se apoya, sobre todo, en la eliminación rápida de las bacterias productoras de toxina mediante antimicrobianos, y administración temprana de antitoxina específica contra la toxina formada por los microorganismos en el sitio donde entraron y se multiplicaron. La antitoxina diftérica se produce en varios animales (caballos, ovejas, cabras y conejos) mediante inyección repetida de toxoide purificado y concentrado. El tratamiento con antitoxina es obligatorio cuando existe fuerte sospecha clínica de difteria. Se inyectan de 20 000 a 100 000 unidades por vía intramuscular o intravenosa, luego de tomar las precauciones adecuadas (prueba cutánea o conjuntival) para excluir hipersensibilidad al suero del animal. La antitoxina debe administrarse el día que se establece el diagnóstico clínico de difteria, y no necesita repetirse. En casos leves puede emplearse inyección intramuscular.

Los antimicrobianos (penicilina, eritromicina) inhiben el crecimiento de los bacilos diftéricos. Aunque estos fármacos prácticamente no tienen efecto sobre el proceso patológico, detienen la producción de toxina. También ayudan a eliminar estreptococos coexistentes y el *C. diphtheriae* de las vías respiratorias de pacientes o portadores.

Epidemiología, prevención y control

Antes de la inmunización artificial, la difteria era una enfermedad principalmente de niños pequeños. La infección se presentaba de manera clínica o subclínica en una edad temprana y daba como resultado la producción extensa de antitoxina en la población. Una infección asintomática durante la adolescencia y la vida adulta servía como estímulo para conservar concentraciones altas de antitoxina. Por tanto, la mayoría de los miembros de la población, excepto los niños, estaban inmunes.

En países en desarrollo, donde son comunes las infecciones cutáneas por *C. diphtheriae*, alrededor de 75% de los niños de aproximadamente 6 a 8 años de edad presentan concentraciones protectoras de antitoxina en suero. La absorción de pequeñas cantidades de toxina diftérica a partir de la infección cutánea presuntamente es el estímulo antigénico para la respuesta inmunitaria; la cantidad de toxina absorbida no produce enfermedad.

En general, la inmunización activa en la infancia con toxoide diftérico produce concentraciones adecuadas de antitoxina hasta la vida adulta. Los adultos jóvenes deben recibir refuerzos de toxoide, puesto que los bacilos diftéricos toxígenos no son lo bastante prevalentes en la población de muchos países desarrollados para suministrar el estímulo de la infección subclínica con generación de resistencia. Las concentraciones de antitoxina declinan con el tiempo y muchas personas de mayor edad muestran cantidades insuficientes de antitoxina circulante para protegerlos contra la difteria.

El principal objetivo de la prevención es limitar la distribución de bacilos diftéricos toxígenos en la población y mantener un nivel tan alto de inmunización activa como sea posible.

Para limitar al mínimo el contacto con el bacilo diftérico, los pacientes con difteria deben ser aislados. Sin tratamiento, un gran porcentaje de las personas infectadas continúa eliminando bacilos diftéricos durante semanas o meses después de la recuperación (portadores convalecientes). Este peligro se puede reducir en gran medida mediante tratamiento activo temprano con antibióticos.

Un filtrado del caldo de cultivo de una cepa toxigénica se trata con 0.3% de formol y se incuba a 37 °C hasta que desaparezca la toxicidad. Este toxoide líquido se purifica y estandariza en unidades floculantes (dosis Lf). El toxoide líquido así preparado se adsorbe en hidróxido o fosfato de aluminio. Este material permanece depositado durante más tiempo luego de inyectarlo y es un mejor antígeno. Dichos toxoides comúnmente se combinan con toxoide tetánico (Td) y a veces con la vacuna *pertussis* (DPT) como inyección única utilizada en la inmunización inicial de niños. Para la inyección de refuerzo en los adultos sólo se emplean toxoides Td; en estos se combina una dosis completa de toxoide tetánico con una dosis 10 veces menor de toxoide diftérico para disminuir la probabilidad de reacciones adversas.

A todos los niños se les debe administrar un ciclo inicial de inmunizaciones y refuerzos. Los refuerzos regulares con Td tienen particular importancia para los adultos que viajan a países en desarrollo, en los cuales la incidencia de difteria clínica puede ser 1 000 veces mayor que en países desarrollados, donde la inmunización es universal.

OTRAS BACTERIAS CORINEFORMES

Muchas otras especies de *Corynebacterium* y de *Propionibacterium* se asocian con enfermedad en los humanos. Las bacterias corineformes se clasifican en no lipofílicas o lipofílicas según si su crecimiento aumenta con la adición de lípidos al medio de cultivo. Las corinebacterias crecen de forma lenta en agar de sangre de carnero, y producen colonias < 0.5 mm de diámetro después de 24 h de incubación. Otras reacciones clave para clasificar las bacterias corineformes incluyen las siguientes pruebas, pero no se limitan a ellas: metabolismo, fermentativo u oxidativo, producción de catalasa, motilidad, reducción del nitrato, producción de ureasa e hidrólisis de la esculina. Por lo común las especies de corinebacteria son inmóviles y positivas a catalasa. Las bacterias corineformes son habitantes normales de la piel y las mucosas, los aparatos respiratorio y urinario, así como la conjuntiva.

Corinebacterias no lipofílicas

El *Corynebacterium ulcerans* y el *Corynebacterium pseudotuberculosis* muestran estrecha relación con el *Corynebacterium diphtheriae* y pueden poseer el gen *tox* de la difteria; tal vez no son especies separadas del *C. diphtheriae*. El *C. ulcerans* toxígeno puede causar enfermedad similar a la difteria clínica, en tanto que el *C. pseudotuberculosis* rara vez causa enfermedad en los humanos. Otras especies del grupo fermentativo no lipofílico incluyen *Corynebacterium xerosis*, *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium minutissimum* y *Corynebacterium amycolatum*. Estas son las bacterias corineformes aisladas con más frecuencia. Muchas bacterias aisladas antes e identificadas como *C. xerosis* quizá hayan sido erróneamente identificadas y en realidad fueron *C. amycolatum*. Existen pocos casos bien documentados de enfermedad causada por el *C. minutissimum*, aunque con frecuencia el microorganismo se aísla de muestras clínicas. Desde el punto de vista histórico, el *C. xerosis* y el *C. striatum* han causado varias infecciones en humanos.

El grupo de corinebacterias no fermentativas ni lipofílicas incluye múltiples especies. Se ha relacionado a *Corynebacterium auris* con infecciones del oído en niños y a *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* con infecciones de las vías respiratorias. La especie *Corynebacterium glucuronolyticum* suele ser positiva a ureasa y es un patógeno de las vías urinarias.

Corinebacterias lipofílicas

El *Corynebacterium jeikeium* es la bacteria corineforme más frecuentemente aislada de pacientes con enfermedad aguda.

Puede ser patógena en pacientes inmunodeficientes y es importante debido a que produce infecciones, incluso bacteriemia, con una gran tasa de mortalidad y por su resistencia a muchos antimicrobianos empleados con frecuencia. El *Corynebacterium urealyticum* es una especie de crecimiento lento que muestra resistencia a múltiples antibióticos. Como indica su nombre, es positiva a ureasa. Se le asocia con infecciones agudas o crónicas del aparato urinario que se manifiestan con orina alcalina y formación de cristales.

Corinebacterias anaerobias

Las corinebacterias anaerobias (p. ej., especies de *Propionibacterium*) residen en la piel normal. Sin embargo, el *Propionibacterium acnes* es aerotolerante y crece aeróbicamente. Participa en la patogenia del acné al producir una lipasa que desdobra los ácidos grasos libres procedentes de la piel. Estos ácidos grasos pueden causar inflamación tisular y contribuir al acné. Puesto que el *P. acnes* es parte de la flora cutánea normal, en ocasiones se encuentra en hemocultivos y debe establecerse si es un contaminante del cultivo o verdadera causa de la enfermedad. El *P. acnes* puede causar infección ocasional en pacientes con una prótesis valvular cardíaca y con sondas para derivación de líquido cefalorraquídeo.

El *Actinomyces pyogenes*, el *Actinomyces neuii* y otras especies de *Actinomyces* pueden asociarse a veces con infección clínica significativa. El *Actinomyces viscosus* crece con rapidez en condiciones aeróbicas.

Otros géneros corineformes

Existen muchos otros géneros y especies de bacterias corineformes. El *Arcanobacterium haemolyticum* produce hemólisis β sobre agar sangre. En ocasiones se asocia con faringitis y puede crecer en un medio selectivo para estreptococos. El *A. haemolyticum* es catalasa negativo, igual que los estreptococos del grupo A, y debe diferenciarse mediante su morfología con tinción de Gram (bacilos en vez de cocos) y sus características bioquímicas. La mayor parte de las bacterias corineformes de otros géneros con frecuencia causan enfermedad y no se identifican por lo común en el laboratorio clínico.

Rhodococcus equi (antes llamado *Corynebacterium equi*) puede aparentar ser un bacilo después de algunas horas de incubación en caldo, pero pasado un tiempo mayor de incubación adquiere la forma cocoide. Estos microorganismos generalmente son fijadores débiles de ácido cuando se tiñen por medio del método de Kinyoun. *R. equi* en ocasiones llega a causar infecciones como neumonía necrosante en pacientes inmunosuprimidos con alteración en su inmunidad mediada por células (p. ej., pacientes con SIDA). *R. equi* está presente en la tierra y en el estiércol de animales herbívoros. Este microorganismo es una causa muy rara de enfermedad en el ganado vacuno, ovino y porcino, y tiene la capacidad para producir infecciones pulmonares graves en potrillos. Otras especies de *Rhodococcus* de diversos géneros se encuentran en el ambiente, aunque pocas veces causan enfermedad en humanos.

La *Rothia dentocariosa* es un bacilo grampositivo que forma filamentos ramificados. Se le asocia con abscesos y

endocarditis, presuntamente después de ingresar a la sangre procedente de la boca.

LISTERIA MONOCYTOGENES

En el género *Listeria* existen varias especies. Entre éstas, la *L. monocytogenes* es causa importante de una amplia gama de enfermedades en los humanos.

Morfología e identificación

La *L. monocytogenes* es un bacilo corto grampositivo y no formador de esporas. De 22 a 28 °C presenta una motilidad a saltos de un extremo a otro, pero no a 37 °C; la prueba de la motilidad puede diferenciar con prontitud la *Listeria* de los difteroides que forman parte de la flora normal de la piel.

Características de cultivo y crecimiento

La *Listeria* crece sobre medios como agar Mueller-Hinton. Se identifica mejor mediante cultivo primario sobre agar con sangre de borrego, debido a la pequeña zona característica de hemólisis observable alrededor y por debajo de las colonias. El aislamiento mejora aún más si el tejido se mantiene a 4 °C durante algunos días antes de inocularlo en el medio bacteriológico. El microorganismo es un anaerobio facultativo, catalasa positivo, dotado de motilidad. Con algunos carbohidratos la *Listeria* produce ácido pero no gas.

La motilidad a temperatura ambiente y la producción de hemolisina son los hallazgos primarios que ayudan a diferenciar la *Listeria* de las bacterias cocineformes.

Clasificación antigénica

La clasificación serológica sólo se establece en los laboratorios de referencia y se emplea principalmente para estudios epidemiológicos. Los serotipos Ia, Ib y IVb son más de 90% de los aislados en humanos. El serotipo IVb se encontró como causa de una epidemia de *Listeriosis* relacionada con queso elaborado con leche pasteurizada de manera inadecuada.

Patogenia e inmunidad

La *L. monocytogenes* ingresa a la sangre a través del aparato gastrointestinal después de la ingestión de alimentos contaminados, como queso o verduras. Posee una proteína en la superficie de la pared celular denominada internalina que interacciona con la cadherina E, un receptor sobre las células epiteliales, para promover la fagocitosis al interior de éstas. Después de la fagocitosis, la bacteria queda encerrada en un fagolisosoma donde el pH bajo activa la bacteria para producir listeriolisina O. Esta enzima provoca la lisis de la membrana del fagolisosoma y permite a la bacteria escapar hacia el citoplasma de la célula epitelial. Los microorganismos proli-

feran e inducen la polimerización de actina en la célula huésped que los impulsa hacia la membrana celular. Empujan contra la membrana celular del huésped y forman prolongaciones alargadas denominadas filópodos. Estos filópodos son ingeridos por las células epiteliales adyacentes, macrófagos y hepatocitos; las *Listerias* se liberan y el ciclo comienza de nuevo. La *L. monocytogenes* se puede desplazar de una célula a otra sin exponerse a anticuerpos, complemento o células polimorfonucleares. La *Shigella flexneri* y las *rickettsias* también aprovechan la actina y el sistema contráctil de las células huésped para propagar la infección.

El hierro es un factor de virulencia importante. Las *Listerias* producen sideróforos y tienen capacidad para obtener hierro a partir de la transferrina.

La inmunidad a la *L. monocytogenes* está mediada principalmente por células, según lo demuestra la localización intracelular de la infección y la notable interrelación entre la infección y el estado de inmunodeficiencia mediada por células, como embarazo, SIDA, linfoma y trasplante de órganos. La inmunidad puede transferirse por linfocitos sensibilizados, pero no por anticuerpos.

Datos clínicos

La *Listeriosis* perinatal humana (*granulomatosis infantil-séptica*) puede ser una infección intrauterina. El síndrome de inicio temprano causa septicemia intrauterina y muerte, antes o después del parto. El síndrome de inicio tardío provoca meningitis entre el nacimiento y la tercera semana de vida; con frecuencia tiene como causa el serotipo IVb y muestra una tasa de mortalidad significativa.

Los adultos pueden desarrollar meningoencefalitis, bacteriemia y, pocas veces, infecciones focales por *Listeria*. La meningoencefalitis y la bacteriemia se presentan con más frecuencia en pacientes inmunodeficientes, en quienes la *Listeria* es una de las causas más comunes de meningitis. El cuadro clínico de la meningitis por *Listeria* en estos pacientes varía desde insidioso hasta mortal y es inespecífico.

El diagnóstico de *Listeriosis* está basado en el aislamiento del microorganismo en hemocultivo y cultivo de líquido cefalorraquídeo.

En muchos animales domésticos y salvajes se presenta una infección espontánea. En los rumiantes (p. ej., ovejas), la *Listeria* puede causar meningoencefalitis con o sin bacteriemia. En animales de menor tamaño (p. ej., conejos, pollos) hay septicemia con absceso focal en hígado y músculo cardíaco, así como monocitosis intensa.

Muchos antimicrobianos inhiben la *Listeria in vitro*. Se ha logrado curación clínica con ampicilina, eritromicina o con trimetoprim-sulfametoxazol intravenoso. Con frecuencia se recomienda ampicilina más gentamicina para el tratamiento, pero la gentamicina no penetra a la célula huésped y a veces no es útil para tratar la infección por *Listeria*.

ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE

El *Erysipelothrix rhusiopathiae* (también llamado *Erysipelothrix insidiosa*) es un bacilo grampositivo que produce

colonia
hemólisis
simula
dad. La
denas co
La morfi
Gram v
de incub
sa, oxid
vagom
converti

El
cytogen
terium
hemólisis
crecen e
pathiae
ser a he
vancomi
pas de la
rhusiopa

El
tres y m
vertebra
pavos, p
tante es
humanos
lítico del
serdo. La
thiae me
por produ
los pesca
de rastros
productos

La in
humanos
sobre los
excoñació
dedo de l
aparece d
sión es pr
hay pus en
de las infe
El erisipe
rápidamen
variantes c
cutánea di
thrix es m
fendo para
intrínsecan

Los actinos
de bacilos g

colonias pequeñas, transparentes y brillantes. Puede ser α hemolítico sobre agar sangre; con tinción de Gram a veces simula gramnegativos debido a que se decolora con facilidad. La bacteria se puede presentar individualmente, en cadenas cortas, al azar o en filamentos largos no ramificados. La morfología de la colonia y el aspecto con la tinción de Gram varían según el medio de crecimiento, temperatura de incubación y pH. El *Erysipelothrix* es negativo a catalasa, oxidasa e indol. Cuando el *Erysipelothrix* crece sobre agar triple azúcar-hierro produce sulfuro de hidrógeno y convierte el fondo del TSI en negro.

El *E. rhusiopathiae* debe diferenciarse de la *L. monocytogenes*, del *Arcanobacterium pyogenes* y del *Arcanobacterium haemolyticum*, pero estas tres especies son β hemolíticas y no producen sulfuro de hidrógeno cuando crecen en medio TSI. Es más difícil diferenciar *E. rhusiopathiae* de los lactobacilos aerotolerantes; ambos podrían ser α hemolíticos. Son negativos a catalasa y resistentes a vancomicina (80% de lactobacilos). Además, algunas cepas de lactobacilos producen H_2S de forma parecida a *E. rhusiopathiae*.

El *E. rhusiopathiae* se distribuye en animales terrestres y marinos a través de todo el mundo, incluso varios vertebrados e invertebrados. Causa enfermedad en cerdos, pavos, patos y ovejas domésticos. El impacto más importante es sobre el cerdo, en el cual causa erisipela. En los humanos esta enfermedad se debe al estreptococo β hemolítico del grupo A, y es muy diferente de la erisipela del cerdo. Las personas contraen la infección por *E. rhusiopathiae* mediante inoculación directa causada por animales o por productos de éstos. Las personas en mayor riesgo son los pescadores o los que manipulan pescados, trabajadores de rastros, carniceros y otras personas en contacto con los productos de estos animales.

La infección más común por *E. rhusiopathiae* en los humanos se denomina erisipeloide. Por lo general aparece sobre los dedos por inoculación directa en una cortadura o excoriación (y se le denomina "dedo de cazador de focas" y "dedo de ballenero"). Después de 2 a 7 días de incubación aparece dolor, que puede ser intenso, e inflamación. La lesión es prominente y de color violáceo. Generalmente no hay pus en el sitio de infección, lo que ayuda a diferenciarla de las infecciones cutáneas por estafilococo y estreptococo. El erisipeloide desaparece después de 3 a 4 semanas, o más rápidamente con tratamiento a base de antibióticos. Las otras variantes clínicas de la infección (ambas poco comunes) son cutánea difusa y bacteriemia con endocarditis. El *Erysipelothrix* es muy susceptible a la penicilina G, el fármaco preferido para las infecciones graves. El microorganismo es intrínsecamente resistente a la vancomicina.

ACTINOMICETOS

Los actinomicetos forman un grupo grande y muy diverso de bacilos grampositivos con tendencia a la formación de

cadenas o filamentos. Se relacionan con las corinebacterias y micobacterias, así como con los estreptomicetos. Conforme los bacilos crecen, las células permanecen unidas después de su división para así formar cadenas largas de bacterias (1 μ m de ancho) con ramificaciones aisladas. La extensión de este proceso varía de acuerdo con las diferentes clases taxonómicas; por ejemplo, es rudimentaria en algunos actinomicetos, las cadenas son cortas, se rompen y separan inmediatamente después de su formación y tienen el aspecto de difteroides; otros desarrollan sustrato abundante o filamentos aéreos (o ambos); y también pueden producir esporas o fragmentos con formas cocobacilares. La mayoría de los actinomicetos son saprofitos que habitan en la tierra, aunque los miembros de este grupo de bacterias son responsables de tres infecciones humanas: actinomicosis, nocardiosis y actinomicetoma.

ACTINOMICOSIS

La actinomicosis es una infección crónica supurativa y granulomatosa, que produce lesiones piógenas con tractos a manera de senos interconectados que contienen gránulos compuestos de microcolonias de bacterias embebidas en elementos tisulares. Los agentes etiológicos son varios miembros relacionados entre sí y que pertenecen a la flora normal de boca y tracto gastrointestinal. La mayoría de los casos se deben a *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii* y otras bacterias facultativas o anaerobias relacionadas con estos microorganismos. Con base en el sitio de compromiso, existen tres formas comunes de actinomicosis: cervicofacial, torácica y abdominal. Independientemente del sitio, la infección se inicia como consecuencia de un trauma que permite la introducción de estas bacterias endógenas en la mucosa.

A menudo, además del agente primario de la actinomicosis, están presentes bacterias concomitantes. Algunas de éstas son bacilos gramnegativos relativamente molestos, como *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Eikenella corrodens* y especies de *Capnocytophaga*. En ocasiones, se han encontrado estafilococos, estreptococos o bacilos entéricos gramnegativos.

Morfología e identificación

La mayor parte de las cepas de *A. israelii*, y otros agentes causales de actinomicosis, son anaerobios facultativos que crecen mejor en una atmósfera con gran cantidad de dióxido de carbono. En un medio sólido enriquecido, como el agar de infusión cerebro-corazón, las colonias jóvenes (24 a 48 h) producen filamentos sustrato grampositivo los que se fragmentan originando cadenas cortas, difteroides y cocobacilos. Después de una semana, estas colonias "aracniformes" se convierten a colonias blancas con aspecto de "dientes molares" amontonados. En caldo de tioglicolato, *A. israelii* crece por debajo de la superficie formando colonias compactas. Las especies se identifican con base en el quimiotipo de la pared celular y en las reacciones bioquímicas.

Los gránulos de azufre hallados en el tejido son de color amarillento y miden hasta 1 mm de diámetro; están compuestos por macrófagos, otras células tisulares, fibrina y bacterias. Las prolongaciones eosinofílicas con forma de palillos de tambor, derivadas de las células bacterianas, suelen proyectarse desde la periferia del gránulo.

Patogénesis y patología

Sin importar el sitio en el organismo, la historia natural es similar en todos los casos de actinomicosis. Las bacterias atraviesan la mucosa o superficie epitelial de boca, tracto respiratorio o tracto gastrointestinal bajo relaciones con caries dental, gingivitis, complicación quirúrgica o trauma. La broncoaspiración puede conducir a infección pulmonar. Los microorganismos crecen en un nicho anaeróbico, inducen una respuesta inflamatoria mixta y se diseminan mediante la formación de senos o cavidades, los cuales contienen gránulos y pueden drenar a la superficie. La infección causa tumefacción y se puede extender a los órganos vecinos, incluyendo huesos. A menudo surgen sobreinfecciones por otras bacterias endógenas.

Datos clínicos

La enfermedad cervicofacial se presenta como un proceso de tumefacción eritematosa en el área mandibular. Con el proceso evolutivo, la masa se vuelve fluctuante, produciendo fistulas drenantes. La enfermedad se extenderá a tejido, hueso y ganglios linfáticos contiguos de cabeza y cuello. Los síntomas de la actinomicosis torácica se asemejan a aquellos de una infección pulmonar subaguda: fiebre leve, tos y esputo purulento; finalmente el tejido pulmonar se destruye, los tractos sinuosos pueden erupcionar hacia la pared torácica y llegan a invadir las costillas. La actinomicosis abdominal por lo general sucede a un apéndice roto o a una úlcera. En la cavidad peritoneal la patología es la misma, pero en este caso cualquier órgano puede estar comprometido, incluyendo riñones, vértebras e hígado. La actinomicosis genital es muy rara en mujeres; es resultado

de la colonización del dispositivo intrauterino con la invasión subsecuente.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

La pus proveniente de los senos drenados, el esputo o muestras de tejido se examinan para identificar la presencia de gránulos de azufre. Los gránulos son duros, lobulados, compuestos de tejido y filamentos bacterianos, los cuales se localizan en la periferia y poseen la forma de palillos de tambor (figura 13-2). Las muestras tisulares se cultivan en caldo de tioglicolato y en placas de agar sangre de infusión cerebro-corazón, los cuales se incuban en condiciones anaeróbicas o con altas concentraciones de dióxido de carbono. El crecimiento se examina en búsqueda de la morfología característica y reacciones químicas. Los agentes causales principales de actinomicosis son catalasa-negativos, en tanto que la gran mayoría del resto de los actinomicetos son catalasa-positivos. Las lesiones superficiales también pueden contener otras especies bacterianas.

Tratamiento

La administración prolongada de penicilina (6 a 12 meses) es efectiva en muchos casos; en aquellos pacientes alérgicos a la penicilina, clindamicina o eritromicina son una alternativa efectiva. Sin embargo, estos fármacos poseen una capacidad limitada para penetrar los abscesos y a veces la destrucción tisular es irreversible. La eliminación del tejido lesionado y el drenaje quirúrgico son medidas necesarias en algunos casos.

Epidemiología

Puesto que *A. israelii* y los otros agentes relacionados con actinomicosis son miembros endógenos de la flora bacteriana, no pueden ser eliminados. Algunos individuos con infecciones recurrentes se someten a terapia profiláctica con

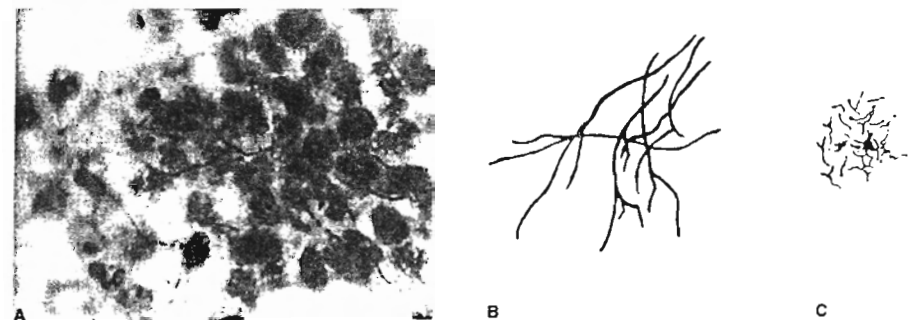


Figura 13-2. *Actinomyces israelii*. A: presencia de gránulos de azufre en pus. B: filamentos grampositivos en caldo de cultivo. C: bacilos ramificantes y de tipo difteroide en cultivo de agar.

penicilina, especialmente antes de procedimientos odontológicos.

NOCARDIOSIS

La nocardiosis es una infección causada por *Nocardia asteroides* o, menos frecuentemente, por *Nocardia brasiliensis* o *Nocardia otitidiscaviarum*, así como otras especies de nocardia aún más infrecuentes. El complejo *Nocardia asteroides* incluye *Nocardia abscessus*, *Nocardia farcinia*, *Nocardia nova* y otras. La importancia del complejo radica en que sus miembros tienden a presentar susceptibilidad antimicrobiana variable, que afecta al tratamiento. Estas bacterias, al igual que muchas especies no patógenas de nocardia, se encuentran distribuidas en la tierra y el agua de todo el mundo. La nocardiosis se inicia mediante la inhalación de la bacteria. La presentación frecuente es una infección pulmonar subaguda o crónica que puede diseminarse a otros órganos, por lo general a cerebro o piel. Las nocardias no se transmiten de persona a persona.

Morfología e identificación

Las especies nocardia son aerobias y crecen en una gran variedad de medios. Durante el curso de varios días hasta una semana o más, estas bacterias se desarrollan en colonias irregulares, hacinadas y de aspecto ceroso. Las cepas varían en cuanto a pigmentación, desde blanco hasta naranja a rojo. Estas bacterias son grampositivas, catalasa-positivas y bacilos fijadores parciales de ácido. Producen ureasa y pueden digerir la parafina. Las nocardias forman grandes sustratos ramificantes y filamentos aéreos que se fragmentan después de su formación, originando así células coccobacilares. La pared celular contiene ácidos micólicos; se considera una estructura que fija débilmente el ácido, aunque si se emplea la técnica de tinción de rutina para fijación de ácido (carbol-fucsina), y después se les decolora con ácido sulfúrico al 1 a 4% en lugar de emplear el decolorante ácido-alcohol mucho más fuerte, entonces la mayoría de los aislados serán ácido-fijadores o fijadores de ácido. Las especies de nocardia se identifican mediante las pruebas fisiológicas de rutina.

Patogénesis y datos clínicos

En la mayoría de los casos, la nocardiosis es una infección oportunista relacionada con varios factores de riesgo, que en su mayoría alteran las respuestas inmunes mediadas por células: tratamiento corticosteroide, inmunosupresión, trasplante de órganos, SIDA, tuberculosis y alcoholismo. La nocardiosis comienza como una neumonía lobar crónica acompañada de una gama amplia de síntomas incluyendo fiebre, pérdida de peso y dolor torácico. Las manifestaciones clínicas no son distintivas y se asemejan a tuberculosis y otras infecciones. Pueden desarrollarse consolidaciones pulmonares, aunque la formación de granulomas y caseificación son raras. El proceso patológico característico es la formación de abscesos. La diseminación desde el pulmón

generalmente involucra al sistema nervioso central, donde los abscesos se desarrollan en el cerebro, lo cual conduce a una gran variedad de presentaciones clínicas. Algunos pacientes manifiestan un compromiso pulmonar subclínico y desarrollan lesiones cerebrales. La diseminación también puede involucrar piel, riñón o cualquier otro órgano.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Las muestras estudiadas son esputo, pus, líquido espinal y material de biopsia. Los frotis sometidos a tinción de Gram revelan la presencia de bacilos grampositivos, células coccobacilares y filamentos ramificantes. Con la técnica modificada de fijación de ácido, la mayoría de los aislados son fijadores de ácido. Las especies nocardia crecen en la mayoría de los medios de laboratorio. Hasta la fecha, todavía no se dispone de pruebas serológicas para el diagnóstico de nocardiosis.

Tratamiento

El tratamiento de elección es trimetoprim-sulfametoxazol. Si los pacientes no responden a esta terapia, se pueden utilizar con éxito muchos otros antibióticos, como amikacina, imipenem y cefotaxima. Pueden ser necesarios el drenaje o la resección quirúrgica.

ACTINOMICETOMA

El micetoma (pie Madura) es una infección crónica local de evolución lenta, que comienza en el tejido subcutáneo y se extiende a los tejidos adyacentes. Es una infección destructiva y a menudo indolora. En muchos casos la causa es un hongo de tierra que se implanta en el tejido subcutáneo a causa de un trauma menor. Esta forma de micetoma se discutirá en el capítulo 45. Un actinomicetoma es un micetoma causado por bacterias filamentosas ramificantes. El gránulo de actinomicetoma se compone de elementos tisulares y bacilos grampositivos y cadenas o filamentos bacilares (1 µm de diámetro). Las causas más comunes de actinomicetoma son *Nocardia brasiliensis*, *Streptomyces somaliensis* y *Actinomyces madurae*. *N. brasiliensis* puede ser fijadora de ácido. Éstos y otros actinomicetos patogénicos se diferencian mediante pruebas bioquímicas y análisis cromatográfico de los componentes de la pared celular. Los actinomicetomas responden bien a diversas combinaciones de estreptomycin, trimetoprim-sulfametoxazol y dapsona, si la terapia se inicia tempranamente antes que la lesión se extienda.

Preguntas de revisión

1. Hace tres meses, una mujer de 53 años de edad fue sometida a intervención quirúrgica y quimioterapia por cáncer de mama. Hace cuatro semanas la paciente manifestó tos que en ocasiones produce esputo purulento. Hace unas dos semanas, observó una debilidad leve

pero progresiva en su brazo y pierna izquierdos. En el examen de tórax, se escucharon estertores en la espalda superior izquierda cuando la paciente respiró profundamente. El examen neurológico confirmó debilidad de brazo y pierna del lado izquierdo. En la radiografía de tórax se observan dos lesiones en el lado derecho. En la tinción de Gram de una muestra de esputo purulento se observan bacilos grampositivos ramificados parcialmente resistentes a la decoloración en ácido. ¿Cuál de los siguientes organismos es la causa de la enfermedad actual de la paciente?

- Actinomyces israelii*
 - Corynebacterium pseudodiphtheriticum*
 - Aspergillus fumigatus*
 - Nocardia asteroides*
 - Erysipelothrix rhusiopathiae*
2. El fármaco que hay que elegir para tratar la infección de esta paciente (pregunta 1) es:
- Penicilina G
 - Trimetoprim-sulfametoxazol
 - Gentamicina
 - Amfotericina B
 - Una cefalosporina de tercera generación
3. Es particularmente difícil diferenciar *Erysipelothrix rhusiopathiae* de:
- Corynebacterium diphtheriae*
 - Bacillus cereus*
 - Actinomyces israelii*
 - Nocardia asteroides*
 - Especies de *Lactobacillus*
4. El movimiento de *Listeria monocytogenes* dentro de las células huésped se debe a:
- La inducción de la polimerización de actina de las células huésped
 - La formación de pili (fimbrias) en la superficie listerial
 - Formación de pseudópodos
 - El movimiento de *Listeria flagella*
 - Motilidad rotatoria
5. Un niño de ocho años de edad experimenta un fuerte dolor de garganta. En el examen, se observa un exudado grisáceo (seudomembrana) en las amígdalas y la faringe. El diagnóstico diferencial de faringitis aguda como éste incluye infección estreptocócica del grupo A, infección por virus de Epstein-Barr (EBV), faringitis por *Neisseria gonorrhoeae* y difteria. La causa más probable de la faringitis del niño es:
- Bacilos gramnegativos
 - Virus RNA de sentido positivo de una sola hebra

- Coco grampositivo positivo a catalasa que crece en grupos
 - Un bacilo grampositivo en forma de palillo de tambor
 - Un virus RNA de doble hebra
6. El mecanismo primario en la patogénesis de la enfermedad del niño (pregunta 5) es:
- Un incremento neto en el monofosfato de adenosina cíclico intracelular
 - La acción de exotoxina pirogénica (un superantígeno)
 - Desactivación de esterasas de acetilcolina
 - Acción de la enterotoxina A
 - Desactivación del factor 2 de elongación
7. *Corynebacterium jeikeium* es:
- Catalasa negativa
 - Gramnegativa
 - Resistente a los antibióticos comunes
 - Móvil
 - Común pero sin importancia clínica
8. *Propionibacterium acnes* es:
- Negativa a catalasa
 - Un anaerobio estricto
 - Parte de la flora gastrointestinal normal
 - Ninguna bacteria corineforme
 - Nombrada así debido a que su producto metabólico principal es ácido propiónico
9. La difteria cutánea, cuando se presenta en niños en áreas tropicales, por lo general:
- No se presenta en niños que han sido inmunizados con toxoide de difteria
 - Es clínicamente distinta de las infecciones cutáneas (piodermia, impétigo) causadas por *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus*
 - También es común en latitudes del norte
 - Da como resultado concentraciones de antitoxina protectora en la mayoría de los niños en la época en que tienen de 6 a 8 años de edad
 - Produce cardiomiopatía mediada por toxina
10. La actinomicosis:
- Por lo común requiere de 6 a 12 meses de terapia antimicrobiana (p. ej., penicilina, eritromicina)
 - Por lo general se relaciona sólo con un patógeno en la investigación de laboratorio
 - Rara vez la causa *Actinomyces israelii*
 - La origina un microorganismo que no es parte de la flora normal de los humanos

Respuestas: 1 = D; 2 = B; 3 = E; 4 = A; 5 = D; 6 = E; 7 = C; 8 = E; 9 = D; 10 = A.

REFERENCIAS

- Funke G *et al.*: Clinical microbiology of coryneform bacteria. Clin Microbiol Rev 1997;10:125.
- Funke G, Bernard KA: Coryneform gram-positive rods. In: Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Murray PR *et al.* (editors). ASM Press, 2003.
- Lorber B: Listeriosis. Clin Infect Dis 1997;24:1.
- Reboli AC, Farrar WE: *Erysipelothrix rhusiopathiae*: An occupational pathogen. Clin Microbiol Rev 1989; 2:354.
- Russo TA: Agents of actinomycosis. In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.

- Sorrell TC, Iredell JR, Mitchell DH: *Nocardia* species. In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Southwick FS, Purich DL: Intracellular pathogenesis of listeriosis. N Engl J Med 1996;334:770.

Estafilococos

Los estafilococos son células esféricas grampositivas, generalmente dispuestas en racimos irregulares parecidos a racimos de uvas; crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios y son metabólicamente activos, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta el amarillo intenso. Algunos son miembros de la flora normal de la piel y mucosas de los humanos; otros causan supuración, formación de abscesos, varias infecciones piógenas e incluso septicemia mortal. Los estafilococos patógenos casi siempre causan hemólisis y coagulación del plasma; y producen varias enzimas y toxinas extracelulares. El tipo más común de envenenamiento alimentario es causado por una enterotoxina termoestable de los estafilococos. Éstos desarrollan con rapidez resistencia a muchos antimicrobianos y presentan problemas terapéuticos difíciles.

El género *Staphylococcus* contiene al menos 30 especies. Las tres de importancia clínica son *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus saprophyticus*. El primero es coagulasa-positivo, que lo diferencia de las otras especies. El *S. aureus* es un patógeno importante para los humanos. Casi toda persona padece algún tipo de infección por *S. aureus* durante su vida, que varía en gravedad desde intoxicación alimentaria o infecciones cutáneas menores hasta infecciones graves potencialmente mortales. Los estafilococos coagulasa-negativos son normales en la flora humana y a veces causan infección, casi siempre asociada con dispositivos y aparatos implantados, sobre todo en pacientes muy ancianos o muy jóvenes e inmunocomprometidos. Alrededor de 75% de estas infecciones causadas por estafilococos coagulasa-negativos se deben al *S. epidermidis*; son menos comunes las infecciones causadas por *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hominis* y otras especies. El *S. saprophyticus* es una causa relativamente común de infecciones del aparato urinario en mujeres jóvenes. Otras especies son importantes en medicina veterinaria.

Morfología e identificación

A. Microorganismos característicos

Los estafilococos son células esféricas de casi 1 µm de diámetro dispuestas en grupos irregulares (figura 14-1). En líquidos de cultivo también se observan cocos únicos en parejas, tétradas y cadenas. Los cocos jóvenes son fuerte-

mente grampositivos; después de envejecer muchas células se hacen gramnegativas. Los estafilococos están desprovistos de motilidad y no forman esporas. Bajo la influencia de fármacos como la penicilina los estafilococos sufren lisis.

Con frecuencia, las especies de *Micrococcus* semejan estafilococos. Viven de manera libre en el ambiente y forman paquetes regulares de 4 u 8 cocos. Sus colonias pueden ser de color amarillo, rojo o naranja.

B. Cultivo

Los estafilococos crecen con facilidad sobre casi todos los medios bacteriológicos en condiciones aeróbicas o microaerófilas. Crecen con mayor rapidez a 37 °C, pero el pig-



Figura 14-1. Tinción de Gram del *Staphylococcus aureus*, que muestra cocos grampositivos en pares, tétradas y racimos.

mento se forma mejor a temperatura ambiente (20 a 25 °C). Sobre medios sólidos las colonias son redondas, lisas, prominentes y brillantes. El *S. aureus* comúnmente forma colonias de color gris o amarillo dorado intenso. En el aislamiento primario las colonias de *S. epidermidis* en general son de color gris o blanco; muchas colonias desarrollan pigmentos sólo después de incubación prolongada. En condiciones anaeróbicas o en caldo de cultivo no se forman pigmentos. El *S. aureus* y, en ocasiones, otras especies pueden producir hemólisis de grado variable. Las especies de *Peptostreptococcus* son cocos anaerobios morfológicamente muy parecidos al estafilococo.

C. Características del crecimiento

Los estafilococos producen catalasa, que los diferencia de los estreptococos. Fermentan lentamente muchos carbohidratos y producen ácido láctico pero no gas; la actividad proteolítica varía mucho de una cepa a otra. Los estafilococos patógenos producen muchas sustancias extracelulares, que se estudian más adelante.

Los estafilococos son relativamente resistentes a la desecación al calor (resisten 50 °C durante 30 min) y al cloruro de sodio al 9%, pero se inhiben con facilidad mediante ciertas sustancias químicas, por ejemplo, hexaclorofeno al 3%.

Los estafilococos muestran susceptibilidad variable a muchos antimicrobianos. La resistencia puede clasificarse en diferentes tipos:

1. La producción de β lactamasa bajo el control de un plásmido es común y confiere al microorganismo resistencia a muchas penicilinas (penicilina G, ampicilina, ticarcilina, piperacilina y fármacos similares). El plásmido se transfiere por transducción y quizá también por conjugación.
2. La resistencia a la nafcilina (a metilicina y oxacilina) es independiente de la producción de β lactamasa. El gen *mecA* de la resistencia a la nafcilina reside en el cromosoma. El mecanismo de resistencia a la nafcilina se vincula con ausencia o inaccesibilidad de ciertas proteínas de unión a la penicilina (PBP) en los microorganismos.
3. En Estados Unidos se considera a *S. aureus* susceptible a vancomicina si la concentración inhibitoria mínima (CIM) es $\leq 4 \mu\text{g/mL}$; de susceptibilidad intermedia si la CIM es de 8 a $16 \mu\text{g/mL}$; y resistente si la CIM es $\geq 16 \mu\text{g/mL}$. En Japón, EUA y otros países se han aislado cepas de *S. aureus* con susceptibilidad intermedia a vancomicina. Éstas por lo común se denominan como *S. aureus* intermedia a vancomicina, o bien, "VISA". Estos *S. aureus* por lo general se aíslan de pacientes con infecciones complejas que han recibido terapia prolongada con vancomicina. A menudo se ha observado fracaso del tratamiento con vancomicina. El mecanismo de resistencia se relaciona con un incremento de la síntesis de la pared celular y alteraciones de esta última; la causa no es la presencia de genes *van* como se observa en los enterococos. Las cepas de *S. aureus* de susceptibilidad intermedia a la vancomicina por lo general son nafcilina-resistentes, aunque suelen ser susceptibles a las oxazolidinonas y a quinupristina/dalfopristina.
4. En 2002, se obtuvieron aislados de cepas de *S. aureus* resistente a vancomicina (VRSA) de pacientes en EUA. Los aislados contenían el gen de resistencia a vancomicina *vanA* de enterococos (capítulo 15) y el gen de resistencia a nafcilina *mecA* (véase antes). Ambas cepas iniciales de VRSA fueron susceptibles a otros antibióticos. La resistencia a vancomicina en *S. aureus* es de mayor interés en el ámbito mundial.
5. La resistencia mediada por plásmido a tetraciclinas, eritromicinas, aminoglicósidos y a otros fármacos es frecuente en estafilococos.
6. La "tolerancia" implica que un fármaco inhibe los estafilococos pero no los mata; es decir, hay una gran diferencia entre la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida de un antimicrobiano. Los pacientes con endocarditis causada por un *S. aureus* tolerante pueden mostrar un curso clínico prolongado, comparados con aquéllos cuya endocarditis es producida por un *S. aureus* completamente susceptible. A veces la tolerancia puede atribuirse a falta de activación de las enzimas autolíticas en la pared celular.

D. Variación

Un cultivo de estafilococos contiene algunas bacterias diferentes del resto de la población en la expresión de las características de las colonias (tamaño de la colonia, pigmento, hemólisis), en la elaboración de enzimas, en la resistencia a los fármacos y en patogenicidad. La expresión de estas características *in vitro* sufre la influencia de las condiciones de crecimiento: cuando el *S. aureus* resistente a la nafcilina se incubaba a 37 °C sobre agar sangre, 1 en 10^7 microorganismos expresan resistencia al antibiótico; cuando éste se incubaba a 30 °C sobre agar con 2 a 5% de cloruro de sodio, 1 en 10^5 microorganismos expresan resistencia a la nafcilina.

Estructura antigénica

En la estructura de la pared celular, los estafilococos contienen polisacáridos y proteínas antigénicas y también otras sustancias importantes. El peptidoglucano (un polímero polisacárido formado por la unión de subunidades) suministra el exoesqueleto rígido de la pared celular. La exposición a un ácido fuerte o a lisozima destruye a los peptidoglucanos. El peptidoglucano es importante en la patogenia de la infección; induce la producción de interleucina-1 (pirógeno endógeno) y de anticuerpos opsonicos en los monocitos; y puede atraer químicamente a los leucocitos polimorfonucleares, posee actividad parecida a endotoxina, y activa al complemento.

Los ácidos teicoicos, polímeros de glicerol o fosfato ribitol, están unidos con el peptidoglucano y pueden ser antígenos. Los anticuerpos ácidos antiteicoicos detectables mediante difusión en gel pueden observarse en pacientes con endocarditis activa causada por *S. aureus*.

La proteína A es un componente de la pared celular de muchas cepas de *S. aureus* que se une a la porción Fc de las moléculas IgG, excepto IgG2. La porción Fab de la IgG unida con la proteína A es libre de combinarse con un antígeno específico. La proteína A se ha convertido en un reactivo importante en la tecnología del laboratorio de diagnóstico y en inmunología; por ejemplo, la proteína A unida con moléculas IgG dirigidas contra un antígeno bacteriano específico

aglutinan las bacterias que poseen dicho antígeno ("coagulación").

Algunas cepas del *S. aureus* poseen cápsulas que inhiben la fagocitosis por los leucocitos polimorfonucleares, a menos que se encuentren presentes anticuerpos específicos. La mayor parte de las cepas de *S. aureus* poseen coagulasa, o factor de coagulación, sobre la superficie de la pared celular; la coagulasa se une de manera no enzimática al fibrinógeno y produce la agregación de las bacterias.

La utilidad de las pruebas serológicas se limita a la identificación de los estafilococos.

Enzimas y toxinas

Los estafilococos pueden producir enfermedad por su capacidad para multiplicarse y propagarse de modo extenso en los tejidos y mediante la producción de muchas sustancias extracelulares. Algunas de estas sustancias son enzimas; otras se consideran toxinas, aunque también pueden funcionar como enzimas. Muchas de las toxinas están bajo control genético de plásmidos, algunas pueden estar bajo control cromosómico y extracromosómico, y para otras el mecanismo de control genético no está bien definido.

A. Catalasa

Los estafilococos producen catalasa, que convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. La prueba de la catalasa puede diferenciar los estafilococos, que son positivos, de los estreptococos, que son negativos.

B. Coagulasa y factor de agrupamiento

S. aureus produce coagulasa, una proteína parecida a enzima que coagula plasma oxalato o citrato. La coagulasa se une con la protrombina; juntas se vuelven activas desde el punto de vista enzimático e inician la polimerización de fibrina. La coagulasa puede depositar fibrina sobre la superficie de los estafilococos, alterando tal vez su ingestión por células fagocíticas o su destrucción dentro de dichas células. Se considera que la producción de coagulasa es sinónimo de patógeno potencialmente invasor.

El factor de agrupamiento es un compuesto superficial de *S. aureus* al cual se debe la adherencia de los organismos al fibrinógeno y fibrina. Cuando se mezcla con el plasma, *S. aureus* forma grupos. El factor de agrupamiento es distinto de la coagulasa.

C. Otras enzimas

Otras enzimas producidas por los estafilococos incluyen una hialuronidasa, o factor de propagación; una estafilocinasa que produce fibrinólisis, pero actúa de manera mucho más lenta en comparación con la estreptocinasa, la proteinasa, la lipasa y la β lactamasa.

D. Exotoxinas

La toxina α es una proteína heterogénea que actúa en un amplio espectro de membranas celulares eucarióticas. La toxina α es una hemolisina potente. La toxina β degrada a la esfingomielina y, por lo tanto, es tóxica para muchas clases de células, como los eritrocitos humanos. La toxina γ

disuelve los eritrocitos de humanos y animales. La toxina δ es heterogénea y se disocia en subunidades en detergentes no iónicos. Esto perturba a las membranas biológicas y podría tener una función en las enfermedades diarreicas por *S. aureus*.

E. Leucocidina

Esta toxina de *S. aureus* tiene dos componentes. Puede matar a los leucocitos de humanos y conejos. Los dos componentes actúan de forma sinérgica en la membrana de los leucocitos para formar poros e incrementar la permeabilidad a los cationes.

F. Toxinas exfoliativas

Estas toxinas epidermíticas de *S. aureus* son dos proteínas distintas del mismo peso molecular. La toxina epidermítica A es un producto de gen cromosómico y es termoestable (resiste la ebullición durante 20 min). La toxina epidermítica B es mediada por plásmido y termolábil. Las toxinas epidermíticas producen la descamación generalizada del síndrome de la piel escaldada estafilocócica. Las toxinas son superantígenos.

G. Toxina del síndrome de choque tóxico

Casi todas las cepas del *S. aureus* aisladas de los pacientes con síndrome de choque tóxico producen una toxina denominada toxina-1 del síndrome de choque tóxico (TSST-1), la cual es similar a las enterotoxinas F. TSST-1 es el prototipo de superantígeno (véase capítulo 8). TSST-1 se une con las moléculas clase II de MHC, y producen la estimulación de la célula T que favorece las múltiples manifestaciones del síndrome de choque tóxico. La toxina se asocia con fiebre, choque y afección de múltiples sistemas, incluyendo erupción descamativa de la piel. El gen que codifica para TSST-1 se identifica en alrededor de 20% de los *S. aureus* aislados.

H. Enterotoxinas

Hay varias enterotoxinas (A-E, G-I, K-M). Alrededor de 50% de las toxinas de *S. aureus* producen una o más de ellas. Al igual que TSST-1, las enterotoxinas son superantígenos. Las enterotoxinas son termoestables y resistentes a la acción de las enzimas del intestino. Una causa importante de intoxicación por alimentos es que se producen enterotoxinas cuando se desarrolla *S. aureus* en alimentos que contienen carbohidratos y proteínas. La ingestión de 25 μ g de enterotoxina B provoca vómito y diarrea. El efecto emético de la enterotoxina tal vez se debe a la estimulación del sistema nervioso central (centro del vómito) luego de que la toxina actúa sobre los receptores nerviosos en el intestino.

Las toxinas exfoliativas, TSST-1, y los genes de enterotoxina están en un elemento cromosómico conocido como isla de patogenicidad. Éste interactúa con elementos genéticos accesorios, bacteriófagos, para producir las toxinas.

Patogenia

Los estafilococos, en particular el *S. epidermidis*, son miembros de la flora normal de la piel humana y de los aparatos respiratorio y gastrointestinal. De 20 a 50% de los humanos albergan *S. aureus* en la nariz. Los estafilococos también se encuentran regularmente en las vestimentas y en la ropa de cama, así como en otros fomites en el entorno del humano.

La capacidad patógena de una cepa determinada de *S. aureus* es un efecto combinado de factores extracelulares y toxinas aünado a las propiedades invasoras de las cepas. En un extremo de la diversidad de la enfermedad se encuentra la intoxicación alimentaria por estafilococo, atribuible únicamente a la ingestión de enterotoxinas preformadas; en el otro extremo están la bacteriemia estafilocócica y los abscesos diseminados en todos los órganos.

El *S. aureus* patógeno invasor produce coagulasa y muestra tendencia a generar un pigmento amarillo y a causar hemólisis. Los estafilococos no patógenos y no invasores como el *S. epidermidis* son coagulasa-negativos y tienden a ser no hemolíticos. Estos microorganismos pocas veces producen supuración, pero pueden infectar las prótesis ortopédicas o cardiovasculares, o causar enfermedad en personas inmunodeficientes. Por lo general, el *S. saprophyticus* es no pigmentado, resistente a la novobiocina y no hemolítico; causa infecciones del aparato urinario en mujeres jóvenes.

Regulación de las determinantes de virulencia

Las proteínas de superficie de *S. aureus*, como la proteína A y las adhesinas, se sintetizan durante la fase de crecimiento exponencial; las proteínas secretadas, como las toxinas, se sintetizan durante la fase estacionaria. Estas fases de crecimiento pueden representar también los estadios iniciales de la infección y la fase donde existe diseminación de ésta hacia los tejidos adyacentes.

El gen regulon global accesorio, *agr*, posee dos operones principales: uno codifica una molécula única de RNA, la RNAIII. Esta molécula induce la regulación positiva de la expresión de las proteínas secretadas y la regulación negativa de la expresión de las proteínas de superficie. En dirección opuesta a la RNAIII, existe un promotor responsable de la expresión de RNAII a partir de un operón de cuatro genes, *agrBDCA*. Los productos del RNAII son necesarios para la expresión óptima de RNAIII. Los genes *agrB* y *agrD* también generan un péptido señal pequeño que activa la expresión de RNAIII de manera dependiente de la densidad de células de *S. aureus*. Además, la proteína reguladora accesoria estafilocócica, codificada por *sarA*, se fija a regiones promotoras del locus *agr*, incrementando así los niveles de RNAII y RNAIII.

Patología

El prototipo de una lesión estafilocócica es el forúnculo y otros abscesos localizados. Los grupos de *S. aureus* establecidos en un folículo piloso conducen a necrosis tisular (factor dermonecrosante). Se produce coagulasa que solidifica fibrina alrededor de la lesión y dentro de los linfáticos; como resultado se forma una pared que limita el proceso; ésta se refuerza por la acumulación de células inflamatorias y más tarde de tejido fibroso. En el centro de la lesión el tejido necrosado sufre liclefación (incrementada por hipersensibilidad tardía) y los abscesos "apuntan" en la dirección de menor resistencia. El drenaje del líquido central del tejido necrosado va seguido por llenado lento de la cavidad con tejido de granulación y por último cicatrización.

La supuración focal (absceso) es característica de la infección por estafilococo. Desde cualquiera de los focos, los microorganismos pueden propagarse a través de los linfáticos y la corriente sanguínea a otras partes del cuerpo. Un rasgo común de esta diseminación es la supuración en las venas acompañada de trombosis. Por lo general, en la osteomielitis el foco primario de crecimiento del *S. aureus* se encuentra en un vaso sanguíneo terminal de la metafisis de un hueso largo, lo cual produce necrosis del hueso y supuración crónica. El *S. aureus* puede causar neumonía, meningitis, empiema, endocarditis o septicemia con supuración en cualquier órgano. Los estafilococos de escasa invasividad participan en muchas infecciones cutáneas (p. ej., acné, pioderma o impétigo). Los cocos anaerobios (*Peptostreptococcus*) participan en las infecciones anaeróbicas mixtas.

Los estafilococos también causan enfermedad por las toxinas que elaboran, sin infección invasora aparente. La exfoliación bulosa, el síndrome de piel escaldada, se atribuye a la producción de toxina exfoliativa. El síndrome de choque tóxico se relaciona con la toxina-1 del síndrome de choque tóxico (TSST-1).

Datos clínicos

Una infección estafilocócica localizada se presenta como un "grano", infección de un folículo piloso, o absceso. Frecuentemente hay una reacción inflamatoria intensa, localizada y dolorosa, que muestra supuración central y cicatriza con rapidez cuando el pus se drena. La pared de fibrina y las células que rodean el centro del absceso tienden a evitar la propagación de los microorganismos y no deben romperse por manipulación o traumatismo.

La infección con el *S. aureus* también puede resultar de la contaminación directa de una herida, por ejemplo, infección por estafilococo de las heridas posoperatorias o infección después de traumatismo (osteomielitis crónica subsecuente a fractura abierta, meningitis después de fractura del cráneo).

Si el *S. aureus* se disemina y sobreviene bacteriemia pueden producirse endocarditis, osteomielitis hematogénica aguda, meningitis o infección pulmonar. Los cuadros clínicos correspondientes semejan los observados en otras infecciones de origen hematogénico. La localización secundaria dentro de un órgano o sistema se acompaña de síntomas y signos de la disfunción del órgano y de intensa supuración local.

El envenenamiento alimentario causado por enterotoxina estafilocócica se caracteriza por un breve periodo de incubación (1 a 8 h): náuseas severas, vómito y diarrea; y convalecencia rápida. No hay fiebre.

El síndrome de choque tóxico se manifiesta por inicio brusco de fiebre alta, vómito, diarrea, mialgia, erupción escarlatiniforme e hipotensión con insuficiencia cardíaca y renal en los casos más graves. Con frecuencia se presenta en los primeros cinco días de la menstruación en mujeres jóvenes que usan tampon, pero también en niños o en varones con infección estafilocócica en las heridas. El síndrome puede recidivar. El *S. aureus* asociado con el síndrome de choque tóxico se puede encontrar en la vagina, tampones, heridas, en otras infecciones localizadas o en la garganta, pero casi nunca en el torrente sanguíneo.

Pru

A. M.
Froti
quea
zació

B. F.
En lo
cocos
sapro
los fro

C. C.
Las m
produ
hemó
despu
biente
manit
puede
la may
agar s
les de

D. Pr
Se col
sobre
queña
ción d
positiv
solució
bacteri
observ

E. Pr
El plas
mezcla
en crec
como c
Si se fo

La
patogén
cos co
temed
veces c
mocos
infecta

F. Pru
Deben
por mic
tafloco
La resis
prueba
los *S. au*
cilina (i
casi 20%
epiderm
cióna co
de unión

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Frotis superficiales, pus, sangre, material aspirado de la tráquea, o líquido cefalorraquídeo para cultivo, según la localización del proceso.

B. Frotis

En los frotis teñidos de pus o esputo se observan los estafilococos típicos. No es posible distinguir los microorganismos saprofitos (*S. epidermidis*) de los patógenos (*S. aureus*) en los frotis.

C. Cultivo

Las muestras sembradas a 37 °C en placas de agar sangre producen colonias típicas en 18 h, pero no pueden presentar hemólisis y producción de pigmento sino hasta varios días después y ambos procesos son óptimos a temperatura ambiente. El *S. aureus*, pero no otros estafilococos, fermenta el manitol. Las muestras contaminadas con una flora mixta pueden cultivarse en medios con 7.5% de NaCl; la sal inhibe la mayor parte de la flora normal pero no al *S. aureus*. El agar sal y manitol se emplea para detectar portadores nasales de *S. aureus*.

D. Prueba de la catalasa

Se coloca una gota de solución de peróxido de hidrógeno sobre un portaobjetos y sobre esa solución se vierte una pequeña cantidad de las bacterias en crecimiento. La formación de burbujas (liberación de oxígeno) indica una prueba positiva. La prueba también se puede realizar si se vierte solución de peróxido de hidrógeno sobre una muestra de bacterias en crecimiento intenso sobre agar inclinado y se observa la aparición de burbujas.

E. Prueba de coagulasa

El plasma citratado de conejo (o humano), diluido 1:5 se mezcla con un volumen igual de caldo de cultivo o colonias en crecimiento sobre agar y se incuba a 37 °C. Se incluye como control un tubo de plasma mezclado con caldo estéril. Si se forma coágulo en 1 a 4 h la prueba es positiva.

Los estafilococos coagulasa-positivos se consideran patógenos para los humanos; no obstante, los estafilococos coagulasa-positivos de los perros (*Staphylococcus intermedius*) y delfines (*Staphylococcus delphini*) muy pocas veces causan enfermedad en humanos. Los microorganismos coagulasa-negativos del grupo *S. epidermidis* pueden infectar las prótesis.

F. Pruebas de susceptibilidad

Deben efectuarse rutinariamente pruebas de susceptibilidad por microdilución en caldo o por difusión en disco a los estafilococos aislados de infecciones de importancia clínica. La resistencia a la penicilina G puede predecirse con una prueba positiva para β lactamasa: aproximadamente 90% de los *S. aureus* producen β lactamasa. La resistencia a la nafcilina (igual que a la oxacilina y meticilina) se observa en casi 20% de los *S. aureus* y en alrededor de 75% de los *S. epidermidis* aislados. La resistencia a la nafcilina se correlaciona con la presencia de *mecA*, gen que codifica la proteína de unión a la penicilina (PBP 2a) y que no se afecta por estos

fármacos. El gen puede detectarse mediante la reacción en cadena de la polimerasa, pero esto no es necesario, puesto que los estafilococos que crecen sobre agar Mueller-Hinton con 4% de NaCl y 6 μ g/mL de oxacilina típicamente son positivos a *mecA* y resistentes a la nafcilina. De manera alternativa, un estudio para el producto del gen *mecA*, PBP 2a, está disponible comercialmente y es mucho más rápido que PCR para *mecA* o que probar la resistencia por medio de crecimiento en agar que contiene sal de oxacilina.

G. Pruebas serológicas y de tipificación

Las pruebas serológicas para diagnóstico de infecciones por *S. aureus* tienen poco valor práctico.

Los patrones de susceptibilidad a los antibióticos son útiles en el seguimiento de las infecciones por *S. aureus* y para determinar si los múltiples *S. epidermidis* aislados de los hemocultivos representan bacteriemia debida a una misma cepa, diseminada a partir de un foco de infección.

Las técnicas de tipificación molecular se utilizan para documentar la diseminación de clonas de *S. aureus* productoras de enfermedad epidémica.

Tratamiento

La mayoría de las personas alberga estafilococos sobre piel, nariz o faringe. Incluso cuando la piel se libera de estafilococos (p. ej., en el eccema), casi de inmediato puede ocurrir reinfección por minúsculas gotas del ambiente. Puesto que los microorganismos patógenos se propagan comúnmente de una lesión (p. ej., furúnculo) a otras regiones de la piel por medio de los dedos y la ropa, la antisepsia local escrupulosa es importante para controlar la furunculosis recidivante.

La infección cutánea múltiple grave (acné, furunculosis) se presenta con mayor frecuencia en adolescentes. Los pacientes a quienes se administran ciclos prolongados de corticosteroides presentan infecciones cutáneas similares. En el acné, las lipasas de los estafilococos y corinebacterias liberan ácidos grasos de los lípidos y, por tanto, irritan los tejidos. Para el tratamiento a largo plazo se emplean las tetraciclinas.

Los abscesos y otras lesiones supurantes cerradas se tratan mediante drenaje (el cual es indispensable) y terapéutica antimicrobiana. Muchos antimicrobianos muestran cierto efecto *in vitro* contra los estafilococos. Sin embargo, es difícil erradicar los estafilococos patógenos de las personas infectadas, debido a que el microorganismo desarrolla con rapidez resistencia a muchos fármacos antimicrobianos y dichos fármacos no pueden actuar en la porción central necrosada de una lesión supurante. También es difícil erradicar el *S. aureus* de los portadores.

La osteomielitis hematógena aguda responde bien a los antimicrobianos. En la osteomielitis crónica y en la recidivante, el drenaje quirúrgico y la extirpación del hueso muerto deben acompañarse de la administración prolongada de fármacos apropiados, pero es difícil erradicar el estafilococo infectante. El oxígeno hiperbárico y la aplicación de colgajos miocutáneos vascularizados pueden ayudar a la cicatrización en la osteomielitis crónica.

Bacteriemia, endocarditis o neumonía, y otras infecciones graves causadas por el *S. aureus* requieren terapéutica

intravenosa prolongada con penicilinas resistentes a β lactamasa. La vancomicina con frecuencia se reserva para su empleo contra los estafilococos resistentes a la nafcilina. Si la infección es causada por un *S. aureus* no productor de β lactamasa el fármaco preferido es la penicilina G, pero sólo un pequeño porcentaje de los *S. aureus* son susceptibles a ésta.

Las infecciones con *S. epidermidis* son difíciles de curar, debido a que se presentan en prótesis donde las bacterias pueden excluirse de la circulación y por tanto de los antimicrobianos. En comparación con el *S. aureus*, el *S. epidermidis* presenta con mayor frecuencia resistencia a los antimicrobianos; casi 75% de las cepas de *S. epidermidis* son resistentes a la nafcilina.

Debido a la frecuencia de cepas resistentes a fármacos, todo estafilococo aislado de una infección significativa debe someterse a pruebas de susceptibilidad antimicrobiana para ayudar a seleccionar los fármacos para empleo sistémico. La resistencia a los fármacos del grupo eritromicina tiende a surgir de manera tan rápida que estos fármacos no deben usarse solos para el tratamiento de la infección crónica. La resistencia a los fármacos (penicilinas, tetraciclinas, aminoglucósidos, eritromicinas, etc.) determinada por plásmidos puede transmitirse entre los estafilococos por transducción y quizá por conjugación.

Las cepas de *S. aureus* resistentes a la penicilina G procedentes de infecciones clínicas siempre producen penicilinasas. En la actualidad constituyen casi 90% de los *S. aureus* aislados en la comunidad en E.U.A. Con frecuencia son susceptibles a penicilinas resistentes a β lactamasa, cefalosporinas o vancomicina. La resistencia a la nafcilina es independiente de la producción de β lactamasa y su incidencia clínica varía mucho en diferentes países y en diferentes épocas. La selección efectuada por los antimicrobianos resistentes a la β lactamasa no es el único determinante de la resistencia bacteriana a dichos fármacos: por ejemplo, en Dinamarca, el *S. aureus* resistente a la nafcilina constituyó 40% de los aislados en 1970 y sólo 10% en 1980, sin cambio notable en el uso de la nafcilina o de fármacos similares. En E.U.A., el *S. aureus* resistente a nafcilina explicó sólo 0.1% de los aislados en 1970, pero en el decenio de 1990-99 constituyó de 20 a 30% de los aislados de infecciones en algunos hospitales. Por fortuna, han sido relativamente infrecuentes las cepas de *S. aureus* de susceptibilidad intermedia a vancomicina y ha sido poco común el aislamiento de cepas resistentes a vancomicina.

Epidemiología y control

Los estafilococos son parásitos humanos ubicuos. Las principales fuentes de infección son las lesiones humanas que los diseminan, los fomites contaminados provenientes de estas lesiones, así como el aparato respiratorio y la piel de los humanos. La propagación por contacto de la infección adquiere importancia adicional en los hospitales, donde una gran proporción del personal y de los pacientes son portadores de estafilococos resistentes a los antibióticos en la nariz o en la piel. Aunque la limpieza, la higiene y el manejo aséptico de las lesiones pueden controlar la propagación de los estafilococos a partir de éstas, se dispone de pocos métodos para prevenir la diseminación amplia de los estafilococos a

partir de los portadores. Los aerosoles (p. ej., glicoles) y la irradiación ultravioleta del aire tienen poco efecto.

En los hospitales las áreas de mayor riesgo de infección estafilocócica grave son los cuartos para recién nacidos, unidades de cuidados intensivos, quirófanos y salas de quimioterapia del cáncer. La introducción masiva de un *S. aureus* patógeno "epidémico" en estas áreas puede producir enfermedad clínica grave. El personal con lesiones que alojan *S. aureus* activo y los portadores deben excluirse de estas áreas. En estas personas, la aplicación de antisépticos tópicos en los sitios portadores, nasal o perineal, a veces disminuye la diseminación de microorganismos peligrosos. La rifampicina junto con un segundo fármaco estafilocócico oral a veces suprime a largo plazo el estado de portador nasal y tal vez es curativa; esta modalidad de terapéutica suele reservarse para problemas mayores de portadores estafilocócicos debido a que los estafilococos pueden desarrollar con rapidez resistencia a la rifampicina. Antisépticos como el hexaclorofeno, utilizados sobre la piel de recién nacidos, disminuyen la colonización por estafilococos, pero su toxicidad evita su uso prolongado.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. En el hombro derecho de una mujer de 54 años de edad se forma un absceso por una cepa de *Staphylococcus aureus* que es resistente a nafcilina. Se trató a la paciente durante dos semanas con vancomicina intravenosa y se observó mejoría. Tres semanas después (semana cinco), la infección volvió y se le suministró vancomicina intravenosa durante dos semanas y de nuevo mejoró. Cuatro semanas después (semana 11), la infección se repitió y se le reinició con vancomicina intravenosa. Las concentraciones inhibitorias mínimas para la vancomicina con respecto a los *S. aureus* aislados fueron como se indica a continuación: aislado inicial (día 1), 1 $\mu\text{g/mL}$; semana 5, 2 $\mu\text{g/mL}$; y semana 11, 8 $\mu\text{g/mL}$. La paciente no mejoró con el tercer tratamiento de vancomicina y se usó una terapia opcional. El mecanismo con el que mejor se explica la resistencia relativa de ésta cepa de *S. aureus* a vancomicina es:
 - A. Adquisición del gen van A de otro microorganismo
 - B. Transporte activo de vancomicina fuera de la célula de *S. aureus*
 - C. Acción de la β lactamasa
 - D. Mayor síntesis de pared celular y alteraciones en la estructura de la pared celular
 - E. Fosforilación y desactivación resultante de la vancomicina
2. Un muchacho de 11 años de edad manifiesta fiebre leve y dolor en su brazo superior. Una radiografía de su brazo muestra una lesión lítica (disolución) en la parte superior del húmero con elevación periosteal sobre la lesión. El paciente es sometido a intervención quirúrgica en la que se desbrida la lesión (se eliminan hueso muerto y pus). El cultivo de la lesión produce cocos grampositivos. En un estudio se observa que el organismo es un estafilococo y no un estreptococo. Con base en esta información, se sabe que el organismo es:
 - A. Susceptible a nafcilina
 - B. Positivo a β lactamasa
 - C. Un productor de proteína A
 - D. Encapsulado
 - E. Positivo a catalasa

3. Un paciente de 36 años de edad tiene un absceso con una cepa de *Staphylococcus aureus* que es positiva a β lactamasa. Según lo anterior, ¿a cuál de los siguientes antibióticos es resistente el organismo?
 - A. Penicilina G, ampicilina y piperacilina
 - B. Trimetoprim-sulfametoxazol
 - C. Eritromicina, claritromicina y azitromicina
 - D. Vancomicina
 - E. Cefazolina y ceftriaxona
4. Hace siete días, una estudiante de medicina de 27 años de edad volvió de América Central, donde pasó el verano trabajando en una clínica para personas indígenas. Hace cuatro días mostró un exantema eritematoso parecido a quemadura solar. También tuvo jaqueca, dolores musculares, calambres abdominales con diarrea. Su tensión arterial es 70/40 mm Hg. En el examen pélvico se observa que para el flujo menstrual utiliza un tampón; de otro modo, el examen pélvico es normal. Las pruebas de funcionamiento del riñón (nitrógeno ureico y creatinina) son anormales, lo que indica insuficiencia renal leve. Una citología sanguínea para malaria es negativa. De lo que se menciona a continuación, ¿cuál es la probable causa de su enfermedad?
 - A. Una toxina que produce concentraciones bastante altas de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) intracelular
 - B. Una toxina que se degrada a esfingomielina
 - C. Una toxina que se une con el complejo principal de histocompatibilidad clase II (MHC) de una célula que presenta antígeno y la región V β de una célula T
 - D. Una toxina de dos componentes que forma poros en los leucocitos e incrementa la permeabilidad a los cationes
 - E. Una toxina que bloquea al factor de elongación 2 (EF2)
5. En un período de tres semanas, un total de cinco recién nacidos en el cuerno del hospital tuvieron infecciones por *Staphylococcus aureus* con bacteriemia por *S. aureus*. Los aislados tuvieron la misma morfología de colonia y propiedades hemolíticas y patrones idénticos de susceptibilidad antimicrobiana, lo que sugiere que son lo mismo. (En métodos moleculares posteriores se observó que los aislados fueron idénticos). ¿Qué se debe hacer de lo que se menciona a continuación?
 - A. Tratamiento profiláctico de los recién nacidos con vancomicina intravenosa
 - B. Aislamiento protector de los recién nacidos
 - C. Cerrar el cuerno y enviar a las embarazadas a otro hospital
 - D. Contratar nuevo personal para el cuerno del hospital
 - E. Realizar un cultivo con agar sal y manitol de las narinas anteriores de los médicos, enfermeras y otras personas que intervinieron en la atención de los bebés infectados.
6. Las toxinas exfoliativas, la toxina de choque tóxico 1 (TSST-1) y las enterotoxinas son superantígenos. Los genes para estas toxinas están:
 - A. Presentes en las cepas de *Staphylococcus aureus*
 - B. Distribuidos de manera extensa en el cromosoma estafilocócico
 - C. Tanto en el cromosoma estafilocócico (TSST-1 y las toxinas exfoliativas) como en plásmidos (enterotoxinas)
 - D. En el cromosoma estafilocócico en una isla de patogenicidad
 - E. En plásmidos
7. Un paciente de 16 años de edad con trasplante de médula ósea tiene una línea venosa central que ha estado en su lugar durante dos semanas. El paciente también tiene un catéter de tracto urinario, que también ha permanecido durante dos semanas. El paciente tiene fiebre, en tanto que su recuento leucocitario es muy bajo y antes del trasplante se le colocó un injerto. Se llevan a cabo tres cultivos de sangre, y en todos se desarrolla *Staphylococcus epidermidis*. ¿Cuál de los siguientes enunciados es correcto?
 - A. Es probable que los organismos de *Staphylococcus epidermidis* sean susceptibles a la penicilina G
 - B. Hay probabilidades de que los organismos de *Staphylococcus epidermidis* sean de la superficie del catéter del tracto urinario.
 - C. Es posible que los organismos de *Staphylococcus epidermidis* sean resistentes a la vancomicina.
 - D. Existen posibilidades de que los organismos de *Staphylococcus epidermidis* sean de una fuente cutánea.
 - E. Posiblemente los organismos de *Staphylococcus epidermidis* estén en una biocapa en la superficie del catéter venoso central.
8. A un hombre de 65 años de edad se le forma un absceso en la parte posterior del cuello. El cultivo produce *Staphylococcus aureus*. En el análisis del aislado se encuentra que es positivo con respecto al gen *mecA*, lo que significa que:
 - A. El aislado es susceptible a vancomicina
 - B. El aislado es resistente a vancomicina
 - C. El aislado es susceptible a nafcilina
 - D. El aislado es resistente a nafcilina
 - E. El aislado es susceptible a penicilina G
 - F. El aislado es resistente a penicilina G
9. La resistencia antimicrobiana se ha vuelto un problema importante. ¿Cuál de las cuestiones siguientes es de interés fundamental a nivel mundial?
 - A. Resistencia a nafcilina en *Staphylococcus aureus*
 - B. Resistencia a la penicilina en *Streptococcus pneumoniae*
 - C. Resistencia a la penicilina en *Neisseria gonorrhoeae*
 - D. Resistencia a la vancomicina en *Staphylococcus aureus*
 - E. Resistencia a la trobamicina en *Escherichia coli*
10. Un grupo de seis niños menores de ocho años de edad vive en un país semitropical. Cada uno de ellos tiene varias lesiones cutáneas con costras supurantes de impétigo (piodermia). Las lesiones se encuentran sobre todo en brazos y cara. ¿Cuál de los siguientes microorganismos es una causa probable de las lesiones?
 - A. *Escherichia coli*
 - B. *Chlamydia trachomatis*
 - C. *Staphylococcus aureus*
 - D. *Streptococcus pneumoniae*
 - E. *Bacillus anthracis*

Respuestas: 1 = D; 2 = E; 3 = A; 4 = C; 5 = E; 6 = D; 7 = E; 8 = D; 9 = D; 10 = C.

REFERENCIAS

- Bannerman TL:** *Staphylococcus, Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR *et al.* (editors)). ASM Press 2003.
- Lowy FD:** *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 1998;339:520.
- Novick RP, Shlievert P, Ruzin A:** Pathogenicity and resistance islands of staphylococci. *Microbes Infect* 2001;3:585.
- Waldvogel FA:** *Staphylococcus aureus* (including staphylococcal toxic shock). In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principle and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone. 2000.

Los estreptococos
por lo general
miento. Se
son miembros
con enferme
te a infecci
a ellos. El

Los es-
nias y no ha-
te especies,
Streptococ-
D₁ se distin-
fología de
sangre (hem-
sición antig-
cificas de g-
upos de *Str-*
fican, adem-
cárdidos cap-

Morfolog

A. Micro

Los cocos i
nen en cad
perpendicu
esta cadena
cóico, y en
los. La lon
condiciona
son grampe
jece y las b
se toman gr
cubación de

Algun
lar compara
pas de los g
compuestas
tables en lo
La pared de
genos M, T

Estreptococos

Los estreptococos son bacterias esféricas grampositivas que por lo general forman pares de cadenas durante su crecimiento. Se distribuyen ampliamente en la naturaleza. Algunos son miembros de la flora humana normal; otros se asocian con enfermedades humanas importantes atribuibles en parte a infección por estreptococos y en parte a sensibilización a ellos. Elaboran varias sustancias extracelulares y enzimas.

Los estreptococos son un grupo heterogéneo de bacterias y no hay un sistema apropiado para clasificarlos. Veinte especies, que incluyen *Streptococcus pyogenes* (grupo A), *Streptococcus agalactiae* (grupo B) y *Enterococcus* (grupo D) se distinguen por combinaciones de características: morfología de las colonias, patrones de hemólisis sobre agar sangre (hemólisis α , hemólisis β , o no hemólisis), composición antigénica de las sustancias de la pared celular específicas de grupo y reacciones bioquímicas. Los diferentes tipos de *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) se clasifican, además, por la composición antigénica de los polisacáridos capsulares.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los cocos individuales son esféricos u ovoides y se disponen en cadenas (figura 15-1). Se dividen según un plano perpendicular al eje largo de la cadena. Los miembros de esta cadena con frecuencia presentan un aspecto de diplocóico, y en ocasiones se observan formas parecidas a bacilos. La longitud de las cadenas varía ampliamente y está condicionada por factores ambientales. Los estreptococos son grampositivos; sin embargo, conforme un cultivo envejece y las bacterias mueren, pierden su grampositividad y se tornan gramnegativos; esto puede ocurrir después de incubación durante una noche.

Algunos estreptococos elaboran un polisacárido capsular comparable al del neumococo. La mayor parte de las cepas de los grupos A, B y C (cuadro 15-1) producen cápsulas compuestas de ácido hialurónico. Las cápsulas son más notables en los cultivos muy jóvenes. Impiden la fagocitosis. La pared de la célula estreptocócica contiene proteínas (antígenos M, T, R), carbohidratos (específicos de grupo) y pep-

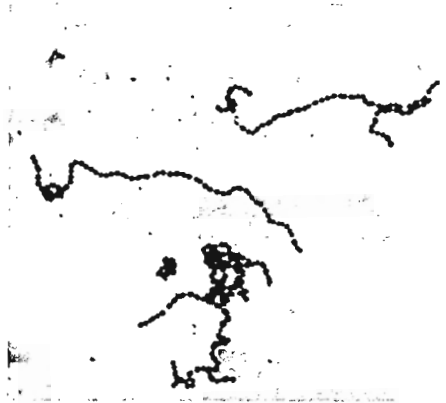


Figura 15-1. Estreptococos que crecen en caldo; se observan cocos grampositivos en cadenas.

tidoglucanos. Los pili semejantes a vellosidades se prolongan a través de la cápsula de los estreptococos del grupo A. Los pili contienen en parte proteína M y están cubiertos de ácido lipoteicoico. Este último es importante para la adhesión de los estreptococos a las células epiteliales.

B. Cultivo

La mayor parte de los estreptococos crece en medio sólido como colonias discoides, comúnmente de 1 a 2 mm de diámetro. Las cepas que producen material capsular con frecuencia dan lugar a colonias mucoides. Las colonias mates y brillantes de las cepas del grupo A se estudian más adelante. El peptostreptococo es un anaerobio obligado.

C. Características del crecimiento

La energía se obtiene principalmente por aprovechamiento de los azúcares. El crecimiento de los estreptococos tiende a ser escaso sobre medio sólido o en caldo, a menos que sea enriquecido con sangre o líquidos tisulares. Los requeri-

Cuadro 15-1. Características de los estreptococos importantes desde el punto de vista médico

Nombre	Sustancia específica de grupo ¹	Hemólisis ²	Hábitat	Criterios importantes de laboratorio	Enfermedades comunes e importantes
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	β	Faringe, piel	Colonias grandes (> 0.5 mm), prueba PYR positiva ³ , inhibido por bacitracina	Faringitis, impétigo, fiebre reumática, glomerulonefritis
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	β	Aparato genital femenino	Hidrólisis de hipurato, CAMP positiva ⁴	Septicemia y meningitis neonata
<i>Enterococcus faecalis</i> (y otros enterococos)	D	α , no hemólisis	Colon	Crecimiento en presencia de bilis, hidroliza esculina, crecimiento en 6.5% de NaCl, PYR positivo	Absceso abdominal, infección del aparato urinario, endocarditis
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subespecie <i>equisimilis</i> ; otras	C, G	β (infecciones en humanos), α , ninguna	Garganta	Colonias grandes (> 0.5 mm)	Faringitis, infecciones piogénicas similares a las de los estreptococos del grupo A
<i>Streptococcus bovis</i> (no enterococo)	D	No hemólisis	Colon	Crecimiento en presencia de bilis, hidroliza esculina, no crece en 6.5% de NaCl, descompone el almidón	Endocarditis, comúnmente aislado de la sangre en el cáncer de colon
Grupo de <i>Streptococcus anginosus</i> (<i>S. intermedius</i> , <i>S. constellatus</i> , grupo <i>S. milleri</i>)	F (A, C, G) y no tipificables	α , β no hemólisis	Faringe, colon, aparato genital femenino	Colonias pequeñas (< 0.5 mm) antes de especies β hemolíticos. Los del grupo A son resistentes a bacitracina y PYR negativos	Infecciones piogénicas, incluso absceso cerebral
	Habitualmente no tipificado o intipificable	α , β , no hemólisis	Faringe, colon, aparato genital femenino	Patrón de fermentación de carbohidratos	No bien definido
<i>Streptococcus viridans</i> (muchas especies)	Habitualmente no tipificado o intipificable	α , no hemólisis	Boca, faringe, colon, aparato genital femenino	Resistente a optoquina. Colonias no solubles en bilis. Patrón de fermentación de carbohidratos	Caries dental (<i>S. mutans</i>), endocarditis, abscesos (con muchas otras especies de bacterias)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Ninguno	α	Faringe	Susceptible a optoquina. Colonias solubles en bilis, reacción <i>quellung</i> positiva	Neumonía, meningitis, endocarditis
<i>Peptostreptococcus</i> (muchas especies)	Ninguno	α , no hemólisis	Boca, colon, aparato genital femenino	Anaerobios obligados	Absceso (con otras múltiples especies de bacterias)

¹ Clasificación de Lancefield.² Se observa hemólisis en agar sangre de borrego al 5% después de incubación durante la noche.³ Hidrólisis de L-pirrolidoni-2-naftilamida ("PYR").⁴ Prueba de Christie, Atkins, Munch-Peterson.

mientos nutritivos varían ampliamente entre las diferentes especies. Los patógenos humanos son más exigentes y requieren una variedad de factores de crecimiento. El crecimiento y la hemólisis se favorecen por incubación en 10% de CO₂.

En tanto que la mayor parte de los estreptococos hemolíticos patógenos crece mejor a 37 °C, los enterococos del grupo D crecen bien entre 15 y 45 °C. Los enterococos también crecen en

concentraciones de cloruro de sodio (6.5%), en 0.1% de urea de metileno, y en medio de cultivo bilis-agar esculina. La mayor parte de los estreptococos son anaerobios facultativos.

D. Variación

Variantes de la misma cepa de estreptococo pueden mostrar colonias de forma diferente. Esto es particularmente notorio

entre las cepas del grupo A, que dan lugar a colonias mate o brillantes. Las colonias mate consisten en microorganismos que producen mucha proteína M. Estos microorganismos tienden a ser virulentos y relativamente no susceptibles a la fagocitosis por los leucocitos humanos. Las colonias brillantes tienden a producir poca proteína M y con frecuencia no son virulentas.

Estructura antigénica

Los estreptococos hemolíticos pueden dividirse en grupos serológicos (A-U, K-U), y ciertos grupos se subdividen en tipos. Se encuentran algunas sustancias antigénicas:

A. Antígeno de la pared celular específico de grupo

Este carbohidrato se encuentra en la pared celular de muchos estreptococos y constituye la base de los grupos serológicos (grupos de Lancefield A-U, K-U). Pueden prepararse extractos de antígenos específicos de grupo para clasificar los estreptococos mediante centrifugación de los cultivos y después extracción con ácido clorhídrico caliente, ácido nítrico o formamida; por lisis enzimática de las células estreptocócicas (p. ej., con pepsina o tripsina); o al someter las suspensiones de células a 15 libras de presión durante 15 min en el autoclave. La especificidad serológica de los carbohidratos específicos de grupo se determina mediante un aminoazúcar. Para los estreptococos del grupo A, este azúcar es la ramnosa-N-acetilglucosamina; para el grupo B, el polisacárido de ramnosilglucosamina; para el grupo C, la ramnosa-N-acetilgalactosamina; para el grupo D, el ácido glicerol teicoico que contiene D-alanina y glucosa; para el grupo F, la glucopiranosil-N-acetilgalactosamina.

B. Proteína M

Esta sustancia es un factor importante de virulencia para el *S. pyogenes* del grupo A. La proteína M tiene la apariencia de prolongaciones semejantes a pelos de la pared celular del estreptococo. Cuando la proteína M está presente, los estreptococos son virulentos, y en ausencia de anticuerpos específicos tipo M pueden resistir la fagocitosis efectuada por los leucocitos polimorfonucleares. Los estreptococos del grupo A carentes de proteína M no son virulentos. La inmunidad a la infección con estreptococos del grupo A se relaciona con la presencia de anticuerpos de tipo específico a la proteína M. Puesto que existen más de 80 tipos de proteína M, una persona puede sufrir infecciones repetidas con *S. pyogenes* del grupo A de diferentes tipos M. Ambos grupos de estreptococos, C y G, poseen genes homólogos a los de la proteína M del grupo A y se ha encontrado proteína M sobre estreptococos del grupo G.

La molécula de la proteína M tiene una estructura de espiral enrollada parecida a un bastoncillo que separa los dominios funcionales. Esta estructura permite gran número de cambios en las secuencias en tanto que mantiene la función, por tanto los inmunodeterminantes de la proteína M pueden cambiar con facilidad. Existen dos clases estructurales principales de proteína M, las clases I y II.

Al parecer, la proteína M y quizá otros antígenos de la pared celular de los estreptococos desempeñan una función importante en la patogenia de la fiebre reumática. Las membranas purificadas de la pared celular de los estreptococos in-

ducen anticuerpos que reaccionan con el sarcolema cardíaco humano: no están claras las características de los antígenos que presentan reacción cruzada. Un componente de la pared celular de tipos M selectos induce anticuerpos que reaccionan con el tejido muscular cardíaco. Los dominios antigénicos conservados de la proteína M clase I muestran reacción cruzada con el músculo cardíaco humano y esta proteína puede ser un determinante de la virulencia para la fiebre reumática.

C. Sustancia T

Este antígeno no tiene interrelación con la virulencia de estreptococos. A diferencia de la proteína M, la sustancia T es acidolábil y termolábil. Se obtiene de los estreptococos mediante la digestión proteolítica que destruye con rapidez a las proteínas M. La sustancia T permite diferenciar ciertos tipos de estreptococos por aglutinación con antiserosos específicos, en tanto que otros tipos comparten la misma sustancia T. Hay otro antígeno de superficie al que se denomina proteína R.

D. Nucleoproteínas

La extracción de los estreptococos con un álcali débil produce mezclas de proteínas y otras sustancias con escasa especificidad serológica denominadas **sustancias P**, tal vez constituidas por la mayor parte del cuerpo de las células estreptocócicas.

Toxinas y enzimas

Los estreptococos del grupo A elaboran más de 20 productos extracelulares antigénicos, los cuales incluyen los siguientes:

A. Estreptocinasa (fibrinolisisina)

Muchas cepas de estreptococo β hemolítico del grupo A producen estreptocinasa. Esta sustancia transforma el plasminógeno del plasma humano en plasmina, una enzima proteolítica activa que digiere la fibrina y otras proteínas. Este proceso de digestión puede interferirse mediante inhibidores inespecíficos del suero y con un anticuerpo específico, la antiestreptocinasa. La estreptocinasa puede administrarse por vía intravenosa para el tratamiento de embolia pulmonar y de trombosis de la arteria coronaria y de trombos venosos.

B. Estreptodornasa

La estreptodornasa (desoxirribonucleasa estreptocócica) despolimeriza el DNA. La actividad enzimática se puede cuantificar por la disminución de la viscosidad de las soluciones de DNA con viscosidad conocida. Los exudados purulentos deben su viscosidad principalmente a la desoxirribonucleoproteína. En el "desdramiento enzimático" se emplean mezclas de estreptodornasa y estreptocinasa. Son útiles para licuar exudados y retirar con mayor facilidad pus y tejido necrosado; así, los antimicrobianos tienen mejor acceso y las superficies infectadas se recuperan con mayor rapidez. Después de las infecciones por estreptococo se desarrolla un anticuerpo DNasa (límite normal = 100 unidades), en especial después de las infecciones de la piel.

C. Hialuronidasa

La hialuronidasa desdobra el ácido hialurónico, un componente importante de la sustancia fundamental del tejido con-

juntivo. Por tanto, la hialuronidasa ayuda a la propagación de los microorganismos infectantes (factor de propagación). Las hialuronidasas son antigénicas y específicas de cada bacteria o fuente tisular. Después de la infección con microorganismos productores de hialuronidasa aparecen en el suero anticuerpos específicos.

D. Exotoxinas pirógenas (toxina eritrógena)

Los estreptococos del grupo A elaboran exotoxinas pirógenas. Existen tres exotoxinas pirógenas estreptocócicas: A, B y C, antígenicamente distintas. La exotoxina A es la más ampliamente estudiada. La producen los estreptococos del grupo A que portan un fago lisogénico y es un superantígeno. Las exotoxinas pirógenas estreptocócicas se han asociado con el síndrome de choque tóxico estreptocócico y con la fiebre escarlatina. La mayor parte de las cepas de estreptococos del grupo A aisladas de los pacientes con síndrome de choque tóxico estreptocócico producen exotoxina A pirógena estreptocócica o poseen el gen que la codifica; por el contrario, aproximadamente 15% de los estreptococos del grupo A aislados de otros pacientes poseen dicho gen. La exotoxina pirógena estreptocócica C también puede contribuir al síndrome, en tanto que la función de la exotoxina pirógena estreptocócica B no es clara. Los estreptococos del grupo A asociados con el síndrome de choque tóxico son principalmente de los tipos 1 y 3 de proteína M.

E. Difosfopiridina nucleotidasa

Algunos estreptococos elaboran esta enzima en el ambiente. Esta sustancia puede relacionarse con la capacidad de los organismos para matar los leucocitos. Ciertas cepas producen proteinasa y amilasa.

F. Hemolisinas

Muchos estreptococos pueden causar hemólisis de grado variable de los eritrocitos *in vitro*. La destrucción completa de los eritrocitos con liberación de hemoglobina se denomina hemólisis β . La lisis incompleta de los eritrocitos con formación de pigmento verde se denomina hemólisis α .

El *S. pyogenes* β hemolítico del grupo A elabora dos hemolisinas (estreptolisinas).

La estreptolisina O es una proteína (PM 60 000) activa hemolíticamente en estado reducido (grupos-SH disponibles), pero en presencia de oxígeno se inactiva rápidamente. La estreptolisina O causa parte de la hemólisis observada cuando el crecimiento ocurre en cortes profundos dentro del medio en placas de agar sangre. Se combina cuantitativamente con la antiestreptolisina O, un anticuerpo que aparece en humanos luego de la infección con cualquier estreptococo que produzca estreptolisina O. Este anticuerpo impide la hemólisis por la estreptolisina O. Este fenómeno constituye la base de una prueba cuantitativa para el anticuerpo. Un título de antiestreptolisina O en suero (ASO) mayor de 160 a 200 unidades se considera anormalmente elevado y sugiere infección reciente por estreptococos, o concentraciones persistentemente grandes del anticuerpo a causa de la respuesta inmunitaria excesiva a una exposición temprana por parte de una persona hipersensible.

La estreptolisina S es el agente causante de las zonas hemolíticas alrededor de las colonias de estreptococos que

crecen sobre la superficie de placas agar sangre. Se elabora en presencia de suero, de ahí el nombre de estreptolisina S. No es antigénica, pero puede detenerse mediante un inhibidor específico casi siempre presente en el suero de los humanos y animales, y es independiente de experiencias anteriores con estreptococos.

Clasificación de los estreptococos

Durante muchos años, la clasificación de los estreptococos en categorías principales se ha basado en una serie de observaciones: 1) morfología de la colonia y reacciones hemolíticas sobre agar sangre; 2) especificidad serológica de la sustancia específica de grupo de la pared celular (clasificación de Lancefield) y otros antígenos capsulares o de la pared celular; 3) reacciones bioquímicas y resistencia a factores físicos y químicos, y 4) características ecológicas. También se emplean otras pruebas bioquímicas y de genética molecular para estudiar la interrelación de las especies estreptocócicas entre sí. La combinación de estos métodos permitió una clasificación de los estreptococos con el fin de emplearla en clínica y epidemiología, pero conforme la clasificación evolucionó se desarrollaron nuevos métodos, y como resultado se describieron varias clasificaciones. En algunos casos se emplean nombres diferentes para especies que describen los mismos organismos; otras veces, algunos miembros de la misma especie se incluyen en otras especies o se clasifican por separado. Por ejemplo, el género *Enterococcus* incluye ahora algunas especies previamente clasificadas como estreptococos del grupo D.

La clasificación de los estreptococos descrita en los siguientes párrafos y resumida en el cuadro 15-1 es un criterio lógico.

A. Hemólisis

Las características de las hemólisis β y α (y la ausencia de hemólisis) se describen antes y en el cuadro 15-1. En algunos sistemas de clasificación, las cepas β hemolíticas incluyen cepas que producen hemólisis α después de una noche de incubación en agar sangre de borrego al 5%. En otras clasificaciones, sólo se consideran como hemolíticas las cepas que producen hemólisis β , y las cepas α hemolíticas se incluyen entre las cepas no hemolíticas. Sin embargo, es más práctico considerar a los estreptococos y a los enterococos como β hemolíticos, α hemolíticos o no hemolíticos. La clasificación de los patrones hemolíticos se usa principalmente para los estreptococos y no para otras bacterias causantes de enfermedad, que típicamente producen varias hemolisinas.

B. Sustancia específica de grupo (clasificación de Lancefield)

Los extractos con ácido caliente o enzimas contienen los carbohidratos específicos de grupo. Dan reacciones de precipitación con antisueros específicos que permiten clasificarlos en los grupos A-H y K-U. En general, la tipificación sólo se efectúa para los grupos A-C, F y G, causantes de enfermedad en humanos y para los cuales hay reactivos que permiten tipificarlos mediante reacciones simples de aglutinación o desarrollo de color.

C. Polisacáridos
La especificidad de los polisacáridos de la pared celular se emplea para la tipificación.

D. Reacciones bioquímicas
Las pruebas de fermentación de azúcares y producción de gases y productos químicos se emplean frecuentemente para conservar el carácter de las especies. Estas pruebas se emplean por lo regular para el cuerpo celular del grupo de los estreptococos reaccionando con la clasificación de especies (especialmente en la categoría de la bacteria de la leche).

Clasificación por métodos de cultivo

Los siguientes son los métodos importantes para la clasificación de los estreptococos.

A. Streptococcus
La mayoría de los grupos de Streptococcus se clasifican por la reacción de la hemólisis. Después de la incubación en agar sangre de borrego al 5%, las cepas β hemolíticas producen una zona de hemólisis completa (zona β) de 2 mm de diámetro.

B. Streptococcus
Son estreptococos que producen una zona de hemólisis incompleta (zona α) de 2 mm de diámetro. La prueba de la hemólisis α se realiza en la prueba de la hemólisis β .

C. Grupo
En ocasiones se emplea la prueba de la hemólisis α y se puede utilizar un medio de cultivo para Streptococcus por reacción.

D. Enterococcus (E. faecalis)
Forman parte del grupo de Streptococcus y se clasifican por la reacción de la hemólisis α .

C. Polisacáridos capsulares

La especificidad antigénica de los polisacáridos capsulares se emplea para clasificar el *S. pneumoniae* en más de 90 tipos y para tipificar los estreptococos del grupo B (*S. agalactiae*).

D. Reacciones bioquímicas

Las pruebas bioquímicas incluyen reacciones de fermentación de azúcar, pruebas para determinar la presencia de enzimas y pruebas de susceptibilidad o resistencia a ciertos agentes químicos. Las pruebas bioquímicas se utilizan con mayor frecuencia para clasificar los estreptococos después de observar el crecimiento de la colonia y las características hemolíticas. Estas pruebas también se emplean para especies que, por lo regular, no reaccionan con las preparaciones de anticuerpo comúnmente usadas para las sustancias específicas del grupo, de los grupos A, B, C, F y G. Por ejemplo, el estreptococo viridans es hemolítico α o no hemolítico y no reacciona con los anticuerpos utilizados habitualmente para la clasificación de Lancefield. La determinación de la especie (especiación) de los estreptococos viridans requiere una batena de pruebas bioquímicas.

Clasificación de los estreptococos con mayor importancia médica

Los siguientes estreptococos y enterococos tienen mayor importancia médica. (Se incluyen nombres de especies menos comunes para aclarar clasificaciones previas y actuales).

A. *Streptococcus pyogenes*

La mayor parte de los estreptococos que contienen el antígeno del grupo A son *S. pyogenes*. Son β hemolíticos. El *S. pyogenes* es el principal patógeno humano asociado con invasión local o sistémica y con trastornos inmunitarios después de infección con estreptococo. Por lo general, el *S. pyogenes* produce grandes zonas (1 cm de diámetro) de hemólisis β alrededor de las colonias mayores de 0.5 mm de diámetro. Son positivos a PYR (hidrólisis de L-pirrolidónil-2-naftilamida) y habitualmente susceptibles a la bacitracina.

B. *Streptococcus agalactiae*

Son estreptococos del grupo B. Pertenecen a la flora normal del aparato genital femenino y son causa importante de septicemia y meningitis neonatal. Suelen ser β hemolíticos y producen zonas de hemólisis sólo un poco mayores que las colonias (1 a 2 mm de diámetro). Los estreptococos del grupo B hidrolizan el hipurato de sodio y dan respuesta positiva a la llamada prueba CAMP (Christie, Atkins, Munch-Peterson).

C. Grupos C y G

En ocasiones, estos estreptococos se observan en la nasofaringe y pueden causar sinusitis, bacteriemia o endocarditis. Sobre un medio de agar sangre con frecuencia se parecen al *S. pyogenes* del grupo A y son β hemolíticos. Se les identifica por reacciones con antisuero específico para los grupos C o G.

D. *Enterococcus faecalis* (*E. faecium*, *E. durans*)

Forman parte de la flora entérica normal. Debido a que el antígeno del grupo D es un ácido teicoico, no es un buen mar-

cador antigénico, y los enterococos suelen identificarse por otras características. Generalmente son no hemolíticos y en ocasiones α hemolíticos. Aunque se les considera catalasa-negativos, a veces son débilmente catalasa-positivos. Son PYR positivos. Crecen en presencia de bilis e hidrolizan la esculina (positivos a bilisesculina). Crecen en 6.5% de NaCl. Son más resistentes a la penicilina G que los estreptococos, y en pocas ocasiones los aislados muestran plásmidos que codifican β lactamasa. Muchos aislados son resistentes a la vancomicina.

E. *Streptococcus bovis*

Éstos son estreptococos no enterocócicos del grupo D. Son parte de la flora entérica, en ocasiones causan endocarditis y a veces bacteriemia en pacientes con carcinoma del colon. Son no hemolíticos y PYR negativos. Crecen en presencia de bilis e hidrolizan la esculina (positivos a bilisesculina), pero no crecen en 6.5% del NaCl. *S. bovis* con frecuencia se clasifica como estreptococo viridans.

F. Grupo de *Streptococcus anginosus*

Otros nombres para la especie del *S. anginosus* son *S. Constellatus*, *S. intermedius* y *S. milleri*. Estos estreptococos son parte de la flora normal. Pueden ser β hemolíticos, α hemolíticos o no hemolíticos. El grupo *S. anginosus* incluye los estreptococos β hemolíticos que forman colonias diminutas (< 0.5 mm de diámetro) y reaccionan con antisueños de los grupos A, C o G; y todos los estreptococos β hemolíticos del grupo F. Los del grupo A son PYR negativos. Los microorganismos de *S. anginosus* son positivos a la prueba de Voges-Proskauer. Se les puede clasificar como estreptococos viridans.

G. *Streptococcus* del grupo N

Algunas veces causan enfermedades humanas, pero producen coagulación normal ("cortado") de la leche.

H. *Streptococcus* de los grupos E, F, G, H y K-U

Estos estreptococos se observan principalmente en animales, con las excepciones anotadas.

I. *Streptococcus pneumoniae*

Los neumococos son α hemolíticos. Su crecimiento puede inhibirse con optoquina (clorhidrato de etilhidrocupreína) y las colonias son solubles en bilis. Su función en la enfermedad se estudia por separado más adelante.

J. *Streptococcus viridans*

Los estreptococos viridans incluyen *S. mitis*, *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. sanguis* y otros. Por lo regular, son α hemolíticos, pero pueden ser no hemolíticos. La optoquina no inhibe su crecimiento y las colonias no son solubles en bilis (desoxicolato). Los estreptococos viridans son los miembros más prevalentes de la flora normal en las vías respiratorias superiores y son importantes para el estado de salud de la mucosa en ese sitio. Pueden alcanzar la circulación sanguínea como consecuencia de traumatismo y constituyen una causa importante de endocarditis en las válvulas cardíacas anormales. Algunos estreptococos viridans (p. ej., *S. mutans*) sintetizan polisacáridos grandes como dextra-

nos o levamos a partir de la sacarosa y contribuyen de manera importante a la génesis de la caries dental.

K. *Streptococcus* nutricionalmente variables

A los estreptococos nutricionalmente variables (*Abiotrophia* *adjacens*, antes llamada *Streptococcus adjacens*, y *Abiotrophia defectiva*, antes llamada *Streptococcus defectivus*) ahora se les conoce como "estreptococos nutricionalmente deficientes", "estreptococos dependientes de piridoxal", y con otros nombres. Requieren piridoxal o cisteína para crecer sobre agar sangre o como colonias satélites alrededor de colonias de estafilococos y otras bacterias. Suelen ser a hemolíticos, pero pueden ser no hemolíticos. Forman parte de la flora normal y en ocasiones causan bacteriemia o endocarditis y pueden encontrarse en abscesos del cerebro y en otras infecciones. La complementación sistemática del medio de agar sangre con piridoxal permite aislar estos microorganismos.

L. *Peptostreptococcus* (muchas especies)

Estos estreptococos sólo crecen en condiciones anaeróbicas o microaerofílicas y pueden producir hemolisis de manera variable. Son parte de la flora normal de la boca, vías respiratorias superiores, intestino y del aparato genital femenino. Con frecuencia participan junto con muchas otras especies bacterianas en las infecciones anaeróbicas del abdomen, pelvis, pulmón o cerebro.

Patogenia y datos clínicos

Varios procesos patológicos diferentes se asocian con las infecciones por estreptococos. Las propiedades biológicas de los microorganismos infectantes, la naturaleza de la respuesta del huésped y la puerta de ingreso de la infección influyen todos de manera muy importante en el cuadro patológico. Las infecciones se pueden dividir en varias categorías.

A. Enfermedades atribuibles a invasión por estreptococos β hemolíticos del grupo A (*S. pyogenes*)

La puerta de ingreso determina el cuadro clínico principal. Sin embargo, en cada caso existe una infección difusa que se extiende con rapidez, la cual afecta los tejidos y se propaga por el trayecto de las vías linfáticas con supuración local mínima. Desde los linfáticos, la infección puede extenderse a la corriente sanguínea.

1. **Erisipela:** si la puerta de entrada es la piel, se produce erisipela, con edema masivo indurado y márgenes de la infección que avanza con rapidez.
2. **Celulitis:** la celulitis estreptocócica es una infección aguda de la piel y tejidos subcutáneos de rápida diseminación. Suele seguir a una infección asociada con un trauma leve, quemaduras, heridas o incisiones quirúrgicas. Se presentan dolor, hipersensibilidad, tumefacción y eritema. La celulitis se diferencia de la erisipela mediante dos hallazgos: en la celulitis, la lesión no se eleva y la línea entre el tejido comprometido y el no comprometido no se puede distinguir.

3. **Fascitis necrosante (gangrena estreptocócica):** ésta es una infección de los tejidos subcutáneos y de la fascia. Se presenta una necrosis extensa de la piel y tejidos subcutáneos que se disemina muy rápidamente. Bacterias distintas a estreptococos del grupo A también pueden causar fascitis necrosante. Los estreptococos del grupo A que causan fascitis necrosante en algunas ocasiones han recibido el nombre de "bacterias devoradoras de carne".
4. **Fiebre puerperal:** si después del parto penetran estreptococos al útero se desarrolla fiebre puerperal, esencialmente una septicemia originada en la herida infectada (endometritis).
5. **Septicemia:** la infección con estreptococos de heridas traumáticas o quirúrgicas causa septicemia o fiebre escarlatina quirúrgica.

B. Enfermedades atribuibles a infección local con *S. pyogenes* β hemolítico del grupo A y sus subproductos

1. **Faringitis estreptocócica:** la infección más común causada por el estreptococo β hemolítico es la faringitis estreptocócica. Los estreptococos virulentos del grupo A se adhieren al epitelio faríngeo por medio de pili de ácido lipoteicoico que cubren su superficie. La glucoproteína fibronectina (PM 440 000) que se encuentra sobre las células epiteliales probablemente sirve como ligando para el ácido lipoteicoico. En los lactantes y niños de corta edad, la faringitis se presenta como una nasofaringitis subaguda con secreción serosa líquida y poca fiebre, pero la infección muestra tendencia a extenderse al oído medio, mastoides y meninges. Los ganglios linfáticos cervicales habitualmente están hipertrofiados. La enfermedad puede persistir durante semanas. En los niños de mayor edad y en los adultos la enfermedad es más aguda y se caracteriza por nasofaringitis grave, amigdalitis con eritema y edema intensos de las membranas mucosas, exudado purulento, ganglios linfáticos cervicales dolorosos e hipertrofiados y (generalmente) fiebre alta. Un 20% de las infecciones son asintomáticas. Puede aparecer un cuadro clínico similar en la mononucleosis infecciosa, difteria, infección gonocócica y en la infección por adenovirus.

La infección estreptocócica de vías respiratorias superiores en general no afecta los pulmones. La neumonía causada por estreptococo β hemolítico progresa con rapidez, es grave y con mayor frecuencia es una secuela de infecciones virales, por ejemplo, influenza o sarampión, las cuales parecen incrementar mucho la susceptibilidad.

2. **Pioderma estreptocócico:** la infección local de las capas superficiales de la piel, sobre todo en los niños, se denomina impétigo. Consiste en flictenas superficiales que se rompen y regiones erosionadas, cuya superficie desnuda está cubierta con pus o costras. Se propaga por continuidad y es muy transmisible, particularmente en climas húmedos y cálidos. La infección más diseminada se observa en la piel eczematosa, heridas o en quemaduras, y puede evolucionar hasta celulitis. La infección estreptocócica cutánea con microorganismos del grupo A frecuentemente se atribuye a los tipos M

49, 57 y 59-61 y a veces precede a la glomerulonefritis, pero no es frecuente que cause fiebre reumática.

C. Endocarditis infecciosa

1. **Endocarditis aguda:** en el curso de la bacteriemia, los estreptococos hemolíticos, neumococos, u otras bacterias pueden asentarse sobre las válvulas cardíacas normales o previamente lesionadas, causando endocarditis aguda. La destrucción rápida de las válvulas casi siempre produce insuficiencia cardíaca mortal en cuestión de días o semanas, salvo que se pueda instalar una prótesis durante el tratamiento antimicrobiano. En esta enfermedad a veces se encuentran *S. aureus* y bacilos gramnegativos, sobre todo en los adictos a narcóticos. Los pacientes con prótesis valvular cardíaca tienen un riesgo especial.

2. **Endocarditis subaguda:** la endocarditis subaguda casi siempre afecta a las válvulas anormales (deformidades congénitas y lesiones reumáticas o ateroscleróticas). Aunque cualquier microorganismo que alcance el torrente sanguíneo puede establecerse sobre las lesiones tromboticas desarrolladas en el endotelio lesionado como consecuencia de la presión circulatoria, la endocarditis subaguda se debe con mayor frecuencia a los miembros de la flora normal del aparato respiratorio o del intestino que accidentalmente alcanzan la circulación sanguínea. Luego de una extracción dental, al menos 30% de los pacientes sufren bacteriemia por estreptococo viridans. Estos estreptococos (ordinariamente los miembros más prevalentes de la flora en las vías respiratorias superiores) también son la causa más frecuente de endocarditis bacteriana subaguda. Los estreptococos del grupo D también son causa común de endocarditis subaguda. Los enterococos procedentes del intestino o del aparato urinario causan cerca de 5 a 10% de los casos. La lesión progresa poco a poco, y la inflamación activa se acompaña de un proceso de cicatrización parcial; las vegetaciones están formadas de fibrina, plaquetas, células sanguíneas y bacterias adheridas a las valvas valvulares. La evolución clínica es gradual, pero la enfermedad es invariablemente mortal en casos no tratados. El cuadro clínico típico incluye fiebre, anemia, debilidad, soplo cardíaco, fenómenos embólicos, esplenomegalia y lesiones renales.

D. Infecciones por estreptococo invasor del grupo A, síndrome de choque tóxico estreptocócico y fiebre escarlata

La infección mortal por estreptococos invasores del grupo A con síndrome de choque tóxico estreptocócico se caracteriza por choque, bacteriemia, insuficiencia respiratoria y de múltiples órganos. Aproximadamente 30% de los pacientes fallecen. La infección tiende a presentarse después de un traumatismo menor en personas por lo demás sanas que se manifiesta bajo diversas formas de infección de tejidos blandos. Éstas incluyen fascitis necrosante, miositis e infecciones en otros sitios de tejido blando. La bacteriemia es frecuente en pacientes con estas graves infecciones por estreptococo del grupo A. En algunos pacientes, en particular los infectados con estreptococos del grupo A de los tipos M 1 o 3, la enfermedad se presenta con infección focal

del tejido blando acompañada de fiebre y choque rápidamente progresivo con insuficiencia de múltiples órganos. Pueden aparecer eritema y descamación. Los estreptococos del grupo A tipos M 1 y 3 (y los tipos 12 y 28) elaboradores de exotoxina pirógena A o B se asocian con infección grave. Estas toxinas y las proteínas M actúan como superantígenos que estimulan a las células T para unirse con el complejo principal de histocompatibilidad de la clase II en las regiones V β del receptor de la célula T. Las células T activadas liberan citocinas mediadoras de choque y lesión tisular. El mecanismo de acción parece ser similar al de la toxina-1 en el síndrome tóxico por estafilococo y al de enterotoxinas estafilocócicas.

Las exotoxinas pirógenas A-C también causan fiebre escarlata, además de faringitis por estreptococos del grupo A o infección de piel o tejido blando. La faringitis puede ser grave. El exantema aparece sobre el tronco después de 24 h de la enfermedad y se propaga hacia las extremidades. El síndrome de choque tóxico estreptocócico y la fiebre escarlata pueden traslaparse clínicamente.

E. Otras infecciones

Varios estreptococos, en particular los enterococos, pueden causar infección en las vías urinarias. En el aparato genital femenino normal, boca e intestino se encuentran estreptococos anaeróbicos (peptostreptococos). A veces provocan lesiones supurantes por sí solos, pero con mayor frecuencia acompañados de otros anaerobios, en particular bacteroides. Estas infecciones pueden aparecer en heridas, mamas, endometrio posparto, luego de rotura de una víscera abdominal, o en la supuración crónica del pulmón. Por lo general, el pus tiene olor fétido. Otros estreptococos (grupos C-L y O) comunes en animales, a veces también producen infección en los humanos.

Los estreptococos del grupo B forman parte de la flora vaginal normal en 5 a 25% de las mujeres. Durante el primer mes de vida, la infección por estreptococos del grupo B puede presentarse a manera de septicemia mortal, meningitis o síndrome de insuficiencia respiratoria. La ampicilina intravenosa intraparto parece evitar la colonización de los lactantes cuyas madres son portadoras de estreptococos del grupo B.

F. Enfermedades postestreptocócicas (fiebre reumática, glomerulonefritis)

Luego de la infección aguda por estreptococos del grupo A hay un periodo de latencia de 1 a 4 semanas, después del cual en ocasiones se desarrolla nefritis o fiebre reumática. El periodo de latencia sugiere que estas enfermedades postestreptocócicas no pueden atribuirse al efecto directo de la bacteria diseminada, sino que en realidad representan una respuesta de hipersensibilidad. La nefritis va precedida más comúnmente de una infección cutánea; la fiebre reumática, por la infección de las vías respiratorias.

1. **Glomerulonefritis aguda:** ésta se desarrolla a veces tres semanas después de la infección por estreptococos, en particular con los tipos M 12, 4, 2 y 49. Algunas cepas son particularmente nefritógenas. En un estudio, 23% de los niños con infección cutánea causada por alguna cepa de tipo 49 desarrollaron nefritis o hematuria. Otros tipos nefritógenos M son 59-61. Luego de la infección estreptocócica aleatoria, la incidencia de nefritis es menor de 0.5%.

A veces los complejos antígeno-anticuerpo sobre la membrana basal glomerular inician la glomerulonefritis. El antígeno más importante tal vez está en la membrana del protoplasto del estreptococo. En la nefritis aguda aparecen sangre y proteína en la orina, hay edema, hipertensión arterial y retención de nitrógeno ureico; la concentración sérica del complemento disminuye. Algunos pacientes mueren; algunos desarrollan glomerulonefritis crónica y, por último, insuficiencia renal; la mayoría se recupera por completo.

2. **Fiebre reumática:** es la secuela más grave de la infección por el estreptococo hemolítico, puesto que daña el miocardio y las válvulas cardíacas. Ciertas cepas de estreptococos del grupo A contienen antígenos de la membrana celular que muestran reacción cruzada con antígenos del tejido cardíaco humano. El suero de los pacientes afectados de fiebre reumática contiene anticuerpos a estos antígenos.

Con frecuencia, el inicio de la fiebre reumática va precedido por infección con estreptococo del grupo A por 1 a 4 semanas, aunque la infección puede ser leve y a veces indetectable. Sin embargo, en general, los pacientes con faringitis estreptocócica de mayor gravedad muestran mayor probabilidad de desarrollar fiebre reumática. Las infecciones estreptocócicas no tratadas fueron seguidas de fiebre reumática en más de 3% del personal militar y 0.3% de los niños de la población civil en el decenio de 1950-59. En el decenio de 1980-89, la fiebre reumática fue relativamente rara en EUA (< 0.05% de las infecciones estreptocócicas), pero se presenta con frecuencia hasta 100 veces mayor en los países tropicales, por ejemplo, Egipto, y es la causa más importante de enfermedad cardíaca en personas jóvenes en países en vías de desarrollo.

Los síntomas y signos típicos de la fiebre reumática incluyen fiebre, malestar, poliartritis migratoria no supurante y evidencia de inflamación en todas las regiones del corazón (endocardio, miocardio, pericardio). Por lo general, la carditis produce engrosamiento y deformidad de las válvulas y pequeños granulomas perivasculariales en el miocardio (corpúsculos de Aschoff) sustituidos con el tiempo por tejido cicatrizal. Para cuantificar la actividad reumática se emplean velocidad de sedimentación globular, concentración de transaminasas en suero, electrocardiograma y otras pruebas.

La fiebre reumática muestra una notable tendencia a reactivarse con las infecciones estreptocócicas recidivantes, en tanto que la nefritis no. El primer ataque de fiebre reumática comúnmente sólo produce daño cardíaco leve; sin embargo, éste aumenta con cada ataque subsecuente. Por tanto, es importante proteger a estos pacientes de las infecciones recidivantes por estreptococos b hemolíticos del grupo A mediante la administración profiláctica de penicilina.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras deben obtenerse según la naturaleza de la infección estreptocócica. Deben obtenerse frotis faríngeo, pus

o sangre para cultivo. Hay que recolectar suero para determinar anticuerpos.

B. Frotis

Con frecuencia, el frotis de pus muestra cocos únicos o pares de cocos y no cadenas definidas. A veces, los cocos son gram-negativos debido a que los microorganismos ya no son viables y han perdido su capacidad de retener el colorante azul (cristal violeta) para continuar como grampositivos. Si en los frotis de pus se observan estreptococos, pero no crecen en el cultivo, deben sospecharse microorganismos anaerobios. Los frotis de faringe pocas veces son útiles, puesto que siempre se encuentran estreptococos (viridans) con el mismo aspecto de los estreptococos del grupo A en los frotis teñidos.

C. Cultivo

Las muestras bajo sospecha de contener estreptococos se cultivan en placas de agar sangre. Cuando se sospecha la presencia de anaerobios también se debe inocular un medio anaeróbico adecuado. La incubación en 10% de CO₂ con frecuencia acelera la hemólisis. Los inocúlos depositados en cortes sobre agar sangre muestran un efecto similar, puesto que el oxígeno no difunde con facilidad a través del medio hasta los microorganismos embebidos profundamente, y dicho oxígeno es el que inactiva la estreptolisina O.

En el hemocultivo, el estreptococo hemolítico del grupo A (p. ej., en la septicemia) crece en unas horas o en pocos días. Ciertos estreptococos a hemolíticos y enterococos pueden desarrollarse con lentitud, de modo que cuando se sospecha endocarditis los hemocultivos ocasionalmente tardan una semana o más para mostrar positividad.

El grado y el tipo de la hemólisis (y el aspecto de las colonias) pueden ayudar a clasificar un microorganismo en un grupo definido. Los estreptococos del grupo A se identifican con rapidez mediante la prueba de anticuerpo fluorescente, la prueba PYR, y por pruebas específicas rápidas para detectar la presencia del antígeno específico del grupo A. Deben efectuarse la clasificación y la tipificación serológicas por medio de pruebas de precipitina o coaglutinación cuando sea necesaria una clasificación definitiva y por razones epidemiológicas. Los estreptococos pertenecientes al grupo A presuntamente pueden identificarse por inhibición del crecimiento mediante bacitracina, pero esto sólo debe emplearse cuando no se dispone de pruebas más definitivas.

D. Pruebas para detección de antígenos

Se dispone de varios estuches ("kits") comerciales para la detección rápida de los antígenos del estreptococo del grupo A a partir de frotis faríngeo. Estos estuches emplean métodos enzimáticos o químicos para extraer el antígeno del frotis, después se utiliza la técnica de ELISA o pruebas de aglutinación para demostrar la presencia del antígeno. Las pruebas pueden concluir en minutos u horas después de recolectar la muestra. Muestran sensibilidad de 60 a 90% y especificidad de 98 a 99% en comparación con los métodos de cultivo. Los estuches de prueba son más rápidos que los cultivos.

E. Pruebas serológicas

Puede cuantificarse un aumento en el título de anticuerpos en muchos antígenos de los estreptococos del grupo A; estos anticuerpos incluyen antiestreptolisina O (ASO) sobre

todo o
Juroni
tiestre
otros.

Inmu

La res
especi
ción p
mente
tipo, p
M. Lo
trarse
los est
citados
presen
tos hu
D
estrept
pos im
can in
infecci
cuenca
infecci

Trata

Todos
sibles
a la er
Los es
en sus
suscep
qué fá
mo, sol
cia, lo
bacteri
cularm
Lo
lonefr
en la in
esfuerz
co del
día 8) y
habitu
micina
adminis
son útil
molítico

Epid

Muchos
etc.) son
Sólo pro
nes del
válvulas

todo en la enfermedad respiratoria; anti DNasa y antihialuronidasa, particularmente en infecciones de la piel; antistreptocinasa; y anticuerpos específicos anti tipo M; y otros. De éstos, el título anti-ASO es el más utilizado.

Inmunidad

La resistencia contra la enfermedad estreptocócica es de tipo específico. Por tanto, un huésped restablecido de una infección por algún estreptococo tipo M del grupo A es relativamente poco susceptible a una nueva infección por el mismo tipo, pero totalmente susceptible a la infección por otro tipo M. Los anticuerpos específicos anti tipo M pueden demostrarse mediante una prueba que aprovecha el hecho de que los estreptococos mueren rápidamente después de ser fagocitados. La proteína M interfiere con la fagocitosis, pero en presencia de anticuerpo específico a proteína M, los leucocitos humanos matan a los estreptococos.

Después de la infección se desarrollan anticuerpos a estreptolisina O (antistreptolisina O, ASO); estos anticuerpos impiden la hemólisis por estreptolisina O, pero no indican inmunidad. Los títulos altos (> 250 unidades) señalan infección reciente o repetida, se observan con mayor frecuencia en padecimientos reumáticos en comparación con infecciones estreptocócicas no complicadas.

Tratamiento

Todos los estreptococos β hemolíticos del grupo A son sensibles a la penicilina G, y la mayor parte también responde a la eritromicina. Algunos son resistentes a las tetraciclinas. Los estreptococos α hemolíticos y los enterococos varían en susceptibilidad a los antimicrobianos. Las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos son útiles para determinar qué fármacos pueden emplearse para un tratamiento óptimo, sobre todo en la endocarditis bacteriana. Con frecuencia, los aminoglucósidos aumentan el índice de acción bactericida de la penicilina contra los estreptococos, particularmente los enterococos.

Los antimicrobianos no tienen efecto sobre la glomerulonefritis y la fiebre reumática ya establecidas. Sin embargo, en la infección estreptocócica aguda se deben hacer todos los esfuerzos necesarios para erradicar con rapidez el estreptococo del paciente, eliminar el estímulo antigénico (antes del día 8) y prevenir así enfermedades posestreptocócicas. Esto habitualmente se consigue con dosis de penicilina o eritromicina capaces de producir concentraciones tisulares eficaces, administradas durante 10 días. Los antimicrobianos también son útiles para prevenir la reinfección con estreptococo β hemolítico del grupo A en pacientes con fiebre reumática.

Epidemiología, prevención y control

Muchos estreptococos (estreptococo viridans, enterococo, etc.) son miembros de la flora normal del cuerpo humano. Sólo producen enfermedad cuando se establecen en regiones del cuerpo donde no se encuentran normalmente (p. ej., válvulas cardíacas). Para prevenir esto, sobre todo en el curso

de procedimientos quirúrgicos sobre los aparatos respiratorio, gastrointestinal y urinario que producen bacteriemia transitoria, suelen administrarse antimicrobianos como profilaxis a las personas con deformidad valvular cardíaca conocida y aquellas con prótesis valvulares o articulares.

La fuente última de los estreptococos del grupo A es una persona que alberga estos microorganismos. La persona puede presentar infección clínica o subclínica, o a veces ser un portador que distribuye directamente el estreptococo a otras personas a través de la piel o del aerosol de las secreciones respiratorias. La secreción nasal de una persona portadora de estreptococo β hemolítico es la fuente más peligrosa de propagación de estos microorganismos. La función de las ropas de cama, utensilios o ropas contaminadas es dudosa. La ubre infectada de una vaca produce leche que a veces causa propagación epidémica del estreptococo β hemolítico. La clasificación y la tipificación inmunitaria de los estreptococos son herramientas valiosas para el seguimiento epidemiológico de la cadena de transmisión.

Los procedimientos de control se dirigen principalmente a la fuente humana:

- 1) **Detección y terapéutica antimicrobiana temprana de las infecciones respiratorias y cutáneas causadas por estreptococos del grupo A.** Erradicar con prontitud los estreptococos de las infecciones iniciales puede prevenir de modo eficaz el desarrollo de la enfermedad posestreptocócica. Esto requiere mantener concentraciones adecuadas de penicilina en los tejidos durante 10 días (p. ej., penicilina G benzatínica administrada una sola vez por vía intramuscular). La eritromicina es el fármaco alternativo preferido.
- 2) **Quimioprofilaxis antiestreptocócica en personas que sufren un ataque de fiebre reumática.** Esto implica administrar una inyección de penicilina G benzatínica por vía intramuscular cada 3 a 4 semanas, o penicilina o sulfonamida por vía oral todos los días. Es poco frecuente que el primer ataque de fiebre reumática cause daño cardíaco mayor. Sin embargo, estas personas son particularmente susceptibles a la reinfección con estreptococos que desencadena recaída de la actividad reumática y da lugar a daño cardíaco. En estas personas la quimioprofilaxis, sobre todo en niños, debe continuar durante años. En la glomerulonefritis no se emplea la quimioprofilaxis debido al pequeño número de tipos nefritógenos de los estreptococos. Una excepción pueden ser las familias con una gran tasa de nefritis posestreptocócica.
- 3) **Erradicación de los estreptococos del grupo A en los portadores.** Esto tiene especial importancia cuando dichos portadores se encuentran en áreas como salas de parto, quirófanos, aulas o guarderías. Por desgracia, es difícil erradicar el estreptococo β hemolítico de los portadores permanentes, y en ocasiones estos individuos deben abandonar por algún tiempo las áreas "sensibles".
- 4) **El control del polvo, ventilación, filtración del aire, luz ultravioleta y vapor en aerosol.** Todos son de eficacia dudosa en el control de la transmisión del estreptococo. La leche siempre debe ser pasteurizada.
- 5) **En la actualidad, los estreptococos del grupo B explican la mayor parte de los casos de septicemia**

neonatal. Se derivan del aparato genital de la madre, donde permanecen sin causar síntomas. La enfermedad neonatal a veces se favorece por la deficiencia de anticuerpos maternos. En el recién nacido, la enfermedad por estreptococos del grupo B puede evitarse mediante profilaxis con fármacos en una madre con cultivo positivo y con trabajo de parto prematuro o con rotura prolongada de las membranas.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Los neumococos (*S. pneumoniae*) son diplococos grampositivos, lanceolados o dispuestos en cadenas y con una cápsula de polisacárido que permite tipificarlos con antiseros específicos. Los neumococos sufren lisis con facilidad por acción de los agentes tensioactivos como las sales biliares. Los agentes tensioactivos probablemente retiran o inactivan los inhibidores de las autolisinas de la pared celular. Los neumococos son habitantes normales de las vías respiratorias superiores en 5 a 40% de los humanos y pueden causar neumonía, sinusitis, otitis, bronquitis, bacteriemia, meningitis y otros procesos infecciosos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los diplococos típicos grampositivos, lanceolados (figura 15-2) se observan con frecuencia en muestras de cultivo joven. En esputo o pus también se observan cocos simples o cadenas. Con la edad, los microorganismos rápidamente se convierten en gramnegativos y tienden a manifestar lisis espontánea.

Los agentes tensioactivos aumentan notablemente la autólisis de neumococos. La lisis de neumococos se presenta en algunos minutos cuando se añade bilis de buey (10%) o desoxicolato sódico (2%) a un caldo de cultivo o suspensión de microorganismos con pH neutro. Los estreptococos viridans no sufren lisis y, por tanto, pueden diferenciarse con facilidad de los neumococos. Sobre medio sólido, el crecimiento de los neumococos se inhibe alrede-

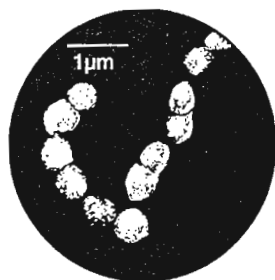


Figura 15-2. Esquema de una micrografía electrónica de neumococos.

dor de un disco de optoquina; los estreptococos viridans no se inhiben con la optoquina.

Otros puntos para identificación incluyen la virulencia casi uniforme en ratones cuando se inyectan por vía intraperitoneal y la "prueba de tumefacción de la cápsula" o reacción *quellung* (véase adelante).

B. Cultivo

Los neumococos forman una pequeña colonia redonda, al principio en forma de domo y después desarrollan una placa central con un reborde elevado. Los neumococos son α hemolíticos sobre agar sangre. Su crecimiento aumenta con 5 a 10% de CO_2 .

C. Características del crecimiento

Se desprende más energía por fermentación de la glucosa; esto se acompaña de producción rápida de ácido láctico que limita el crecimiento. Con la neutralización a intervalos del caldo de cultivo con álcali se logra un crecimiento masivo.

D. Variación

Los neumococos aislados que producen gran cantidad de cápsulas producen colonias mucoides. La producción de cápsula no es indispensable para el crecimiento sobre agar y, por tanto, la producción capsular se pierde después de un pequeño número de subcultivos. Sin embargo, cuando se inyectan a ratones los neumococos producen de nuevo cápsulas y aumentan su virulencia.

Estructura antigénica

A. Estructuras componentes

La pared neumocócica tiene peptidoglucano y ácido teicoico, al igual que otros estreptococos. El polisacárido capsular se une mediante enlace covalente con el peptidoglucano y el polisacárido de la pared celular. El polisacárido capsular es inmunológicamente distinto para cada uno de los más de 90 tipos.

B. Reacción *quellung*

Cuando los neumococos de un cierto tipo se mezclan con suero de polisacárido específico del mismo tipo, o con antisuero polivalente, en un portaobjetos de microscopio, la cápsula aumenta en forma notable, y los organismos se aglutinan por entrecruzamiento de los anticuerpos. Esta reacción es útil para identificar y tipificar los microorganismos, sea en esputo o cultivo. El antisuero polivalente, que contiene anticuerpos para todos los tipos ("omnisuero"), es un buen reactivo para la determinación microscópica rápida de la presencia de neumococos en esputo fresco.

Patogenia

A. Tipos de neumococos

En los adultos los tipos 1 a 8 causan casi 75% de los casos de neumonía neumocócica y más de la mitad de todas las muertes por bacteriemia neumocócica; en los niños, los tipos 6, 14, 19 y 23 son la causa más frecuente.

B. Producción de la enfermedad

Los neumococos producen enfermedad por su capacidad para multiplicarse en los tejidos. No producen toxinas significativas. La virulencia del microorganismo es función de su cápsula, que evita o retarda la ingestión por los fagocitos. Un suero con anticuerpos contra el polisacárido de tipo específico protege contra la infección. Si este suero se absorbe con el polisacárido de tipo específico pierde su poder protector. Los humanos o animales inmunizados con un tipo determinado de polisacárido neumocócico son subsecuentemente inmunes a ese tipo de neumococo y poseen anticuerpos precipitantes y opsonizantes para dicho tipo de polisacárido.

C. Pérdida de la resistencia natural

Puesto que de 40 a 70% de los humanos son portadores de neumococo virulento en algún momento, la mucosa respiratoria normal debe poseer una gran resistencia natural a los neumococos. Entre los factores que tal vez disminuyen esta resistencia y, por tanto, predisponen a la infección neumocócica, se encuentran los siguientes:

1. Infecciones virales y de otro tipo en el tracto respiratorio que dañan las células de la superficie; acumulación anormal de moco (p. ej., alergia), que protege al neumococo de la fagocitosis; obstrucción bronquial (p. ej., atelectasia), y lesiones del aparato respiratorio causadas por irritantes que alteran la función de los cilios de la mucosa.
2. Intoxicación alcohólica o con drogas, la cual deprime la actividad fagocitaria, disminuye el reflejo de la tos y facilita la aspiración de materiales extraños.
3. Dinámica circulatoria anormal (p. ej., congestión pulmonar, insuficiencia cardíaca).
4. Otros mecanismos, por ejemplo, desnutrición, debilidad general, drepanocitemia, hiposplenismo, nefrosis o deficiencia del complemento.

Patología

Las infecciones neumocócicas causan exudación de líquido fibrinoso edematoso a los alveolos seguido por eritrocitos y leucocitos que producen consolidación de partes del pulmón. En este exudado se encuentra gran cantidad de neumococos que pueden alcanzar el torrente sanguíneo por la vía del drenaje linfático de los pulmones. Las paredes alveolares normalmente permanecen intactas durante la infección. Después, las células mononucleares fagocitan activamente los residuos y gradualmente se reabsorbe esta fase líquida. Los fagocitos captan y digieren en su interior los neumococos.

Datos clínicos

El inicio de neumonía neumocócica habitualmente es súbito, con fiebre, escalofríos y dolor pleural agudo. El esputo es similar al exudado alveolar, característicamente es sanguinolento o de color herrumbroso. Al principio de la enfermedad, cuando la fiebre es alta, hay bacteriemia en 10 a 20% de los casos. Con el advenimiento de la terapéutica anti-

microbiana la enfermedad por lo general concluye con rapidez; si los fármacos se administran desde el principio se evita la consolidación pulmonar.

La neumonía neumocócica debe diferenciarse del infarto pulmonar, atelectasia, neoplasia, insuficiencia cardíaca congestiva y neumonía causada por muchas otras bacterias. El empiema (pus en el espacio pleural) es una complicación significativa y requiere aspiración y drenaje.

Desde el aparato respiratorio, los neumococos pueden alcanzar otros sitios. Los senos paranasales y el oído medio se afectan con mayor frecuencia. A veces, la infección se extiende desde la mastoides hasta las meninges. La bacteriemia por neumonía presenta una tríada de complicaciones graves: meningitis, endocarditis y artritis séptica. Con el uso temprano de quimioterapia, la endocarditis neumocócica aguda y la artritis se han vuelto poco comunes.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Se extrae sangre para cultivo y se recolecta esputo para demostrar neumococos en frotis y cultivos. Las pruebas de anticuerpos en suero no son prácticas. El esputo se puede examinar de varias maneras.

A. Frotis teñidos

Un frotis de esputo herrumbroso teñido con tinción de Gram muestra los microorganismos típicos, muchos neutrófilos polimorfonucleares y gran cantidad de eritrocitos.

B. Prueba de tumefacción de la cápsula

En una muestra de esputo fresco emulsificado y mezclado con antiséptico se observa tumefacción de la cápsula (reacción *quellung*) y así se pueden identificar y tal vez tipificar los neumococos. También se puede utilizar exudado peritoneal para la prueba de tumefacción de la cápsula.

C. Cultivos

Cultivo de esputo sobre agar sangre e incubado en CO₂ o con la técnica de la vela. Hemocultivo.

D. Inyección intraperitoneal de esputo a ratones

Los animales mueren después de 18 a 48 h; el hemocultivo con sangre del corazón produce cultivo puro de neumococos. Esta modalidad de cultivo es muy sensible para los neumococos, pero pocas veces se utiliza debido a la necesidad de mantener una colonia de ratones.

E. Meningitis neumocócica

Este diagnóstico se establece mediante examen y cultivo inmediatos del líquido cefalorraquídeo.

Inmunidad

La inmunidad a la infección por neumococos es de tipo específico y depende de los anticuerpos al polisacárido capsular y de la integridad de la función fagocitaria. Las vacunas pueden inducir producción de anticuerpos a los polisacáridos capsulares (véase después).

Tratamiento

Puesto que los neumococos son susceptibles a muchos antimicrobianos, el tratamiento oportuno ayuda a la recuperación rápida y la respuesta de anticuerpos parece desempeñar una función mucho menor. La penicilina G es el fármaco preferido, pero en EUA de 5 a 10% de los neumococos son resistentes a penicilina (concentración inhibitoria mínima o CIM $\geq 2 \mu\text{g/mL}$) y casi 20% son moderadamente resistentes (CIM 0.1 a $1 \mu\text{g/mL}$). Las dosis altas de penicilina G con CIM de 0.1 a $2 \mu\text{g/mL}$ parecen ser eficaces en el tratamiento de la neumonía causada por neumococo, pero no para tratar la meningitis causada por la misma cepa. Algunas cepas resistentes a la penicilina también lo son a la ceftizoxima. Además, se observa resistencia a la tetraciclina y a la eritromicina. Los neumococos aún son susceptibles a la vancomicina.

Epidemiología, prevención y control

La neumonía neumocócica explica cerca de 60% de todas las neumonías bacterianas. Es una enfermedad endémica con gran incidencia de portadores. Durante el desarrollo de la enfermedad, los factores predisponentes (véase antes) son más importantes que la exposición al agente infeccioso, y el portador sano es más importante para diseminar el neumococo que el paciente enfermo.

Es posible inmunizar a las personas con polisacáridos de tipo específico. Estas vacunas probablemente suministran 90% de protección contra neumonía bacteriémica. Entre los trabajadores de minas de oro en Sudáfrica, las vacunas con 12 tipos de polisacárido suministran buena respuesta de anticuerpos y protegen bien contra la enfermedad. Una vacuna con 14 tipos de neumococo fue beneficiosa en pacientes con drepanocitemia o después de esplenectomía. En 1983 se autorizó en EUA una vacuna expandida con 23 tipos de polisacáridos. Estas vacunas son apropiadas para niños y ancianos, así como para personas debilitadas o inmunodeficientes. Una vacuna neumocócica conjugada contiene polisacáridos capsulares conjugados con la proteína CRM₁₉₇ de la difteria. Esta vacuna heptavalente se recomienda para niños de 2 a 23 meses de edad y para algunos niños con edades de 24 a 59 meses. La vacuna protege contra neumococos más frecuentes en EUA que también están entre los más resistentes a antibióticos.

Además, es deseable evitar los factores predisponentes, establecer el diagnóstico con prontitud e iniciar de manera temprana la quimioterapia adecuada. En el momento actual casi todas las muertes por neumonía neumocócica acontecen en personas mayores de 50 años de edad; en personas con resistencia natural deficiente, por ejemplo, con drepanocitemia o asplenia, y en personas con bacteriemia.

ENTEROCOCOS

Existen al menos 12 especies de enterococos. El *Enterococcus faecalis* es el más común y causa de 85 a 90% de las infecciones enterocócicas, en tanto que el *Enterococcus faecium* causa de 5 a 10%. Los enterococos se consideran

una de las causas más comunes de infección nosocomial, sobre todo en unidades de cuidado intensivo, y se seleccionan por la terapéutica con cefalosporina y otros antibióticos a los cuales son resistentes. Los enterococos se transmiten de un paciente a otro principalmente por las manos del personal del hospital, algunos de ellos pueden portar el enterococo en el conducto gastrointestinal. En ocasiones, los enterococos se transmiten por los dispositivos médicos. En los pacientes, los sitios más comunes de infección son aparato urinario, heridas, conducto biliar y sangre. Los enterococos pueden causar meningitis y bacteriemia en los neonatos; en los adultos pueden causar endocarditis. Sin embargo, en infecciones intraabdominales, heridas, orina y otras, el cultivo suele producir enterococos y otras especies de bacterias y es difícil definir la función patogénica de los enterococos.

Resistencia a los antibióticos

Un problema mayor con los enterococos es que pueden ser muy resistentes a los antibióticos. El *E. faecium* frecuentemente es mucho más resistente a los antibióticos que el *E. faecalis*.

A. Resistencia intrínseca

Los enterococos son intrínsecamente resistentes a cefalosporinas, penicilinas resistentes a penicilinasas y a monobactamas. Poseen resistencia intrínseca de menor grado a muchos aminoglucósidos, presentan susceptibilidad intermedia o resistencia a las fluoroquinolonas y son menos susceptibles que los estreptococos (10 a 1 000 veces) a la penicilina y a la ampicilina. Los enterococos se inhiben con los β lactámicos (p. ej., ampicilina), pero generalmente no los matan.

B. Resistencia a los aminoglucósidos

Para infecciones enterocócicas graves, como endocarditis, es indispensable la terapéutica con combinaciones de un antibiótico activo contra la pared celular (penicilina o vancomicina) más un aminoglucósido (estreptomina o gentamicina). Los enterococos poseen resistencia intrínseca de menor grado a los aminoglucósidos (CIM de $< 500 \mu\text{g/mL}$), pero muestran susceptibilidad sinérgica cuando se les trata con un antibiótico activo contra la pared celular más un aminoglucósido. Sin embargo, algunos enterococos poseen resistencia de mayor grado a los aminoglucósidos (CIM $> 500 \mu\text{g/mL}$) y no son susceptibles a las mezclas sinérgicas. Esta resistencia de mayor grado a los aminoglucósidos se atribuye a enzimas enterocócicas modificadoras del aminoglucósido (cuadro 15-2). Los genes que codifican la mayor parte de estas enzimas habitualmente se encuentran sobre plásmidos conjugados o transposones. Las enzimas poseen actividad diferencial contra los aminoglucósidos. La resistencia a la gentamicina predice la resistencia a los otros aminoglucósidos, excepto a la estreptomina (la susceptibilidad a gentamicina no predice la susceptibilidad a otros aminoglucósidos). La resistencia a la estreptomina no predice la resistencia a otros aminoglucósidos. El resultado es que sólo la estreptomina o la gentamicina (o ambas, o ninguna) es probable que muestren actividad sinérgica contra los enterococos con un antibiótico activo en la pared celular. Los enterococos procedentes de infección grave deben someterse a pruebas de susceptibilidad (CIM > 500

6-ader

3'-fosfo

6'-acet

4'-ader

2'-fosfo

$\mu\text{g/mL}$)
micina
cacia te

C. Res

El gluc
nativo a
tamiento
enteroco
frecuente
mezclas
do. La r
en el *E. faec*
E. faec
Exi

micina.
de mayo
nina. En
la vanco
cepas co
derada a
pecies n
gallinaru
coccus fl
manifest
sistencia
na. El fe
vancomi



Figura 15-2. *Enterococcus faecalis* es un organismo Gram positivo. IRL es un acrónimo de Inhibición de la Resistencia a los Antibióticos.

Cuadro 15-2. Enzimas enterocócicas modificadoras de aminoglucósidos que impiden la sinergia aminoglucósido-penicilina

Enzima	Aminoglucósido			
	Estreptomina	Gentamicina	Tobramicina	Amikacina
6-adeniltransferasa	+	-	-	-
3'-fosfotransferasa	-	-	-	+
6'-acetiltransferasa	-	-	+	-
4'-adeniltransferasa	-	-	+	±
2"-fosfotransferasa/6'-acetiltransferasa	-	+	+	+

µg/mL) para detectar resistencia de mayor grado a la gentamicina y a la estreptomina, con objeto de predecir su eficacia terapéutica.

C. Resistencia a la vancomicina

El glucopéptido vancomicina es el principal fármaco alternativo a la penicilina (más un aminoglucósido) para el tratamiento de la infección por enterococos. En EUA, los enterococos resistentes a la vancomicina han aumentado en frecuencia. Estos enterococos no son susceptibles a las mezclas sinérgicas de vancomicina más un aminoglucósido. La resistencia a la vancomicina parece ser más común en el *E. faecium*, pero también pueden aparecer en cepas de *E. faecalis* resistentes al antibiótico.

Existen cuatro fenotipos de resistencia a la vancomicina. El fenotipo VanA se manifiesta por la resistencia de mayor grado inducible a la vancomicina y a la teicoplanina. En los fenotipos VanB se puede inducir resistencia a la vancomicina, pero son susceptibles a la teicoplanina. Las cepas con VanC muestran resistencia de intermedia a moderada a la vancomicina. El VanC es constitutivo en las especies menos comúnmente aisladas de *Enterococcus gallinarum* (VanC-1) y *Enterococcus casseliflavus/Enterococcus flavescens* (VanC-2/VanC-3). El fenotipo VanD se manifiesta por resistencia moderada a la vancomicina y resistencia de menor grado o susceptibilidad a la teicoplanina. El fenotipo VanE es moderadamente resistente a la vancomicina y susceptible a la teicoplanina.

La teicoplanina es un glucopéptido con mucha similitud a la vancomicina. Se encuentra disponible para pacientes en Europa, pero no en EUA. Tiene importancia en la investigación de la resistencia de los enterococos a la vancomicina.

La vancomicina y la teicoplanina interfieren con la síntesis de la pared celular en las bacterias grampositivas por interacción con el grupo D-alanil-D-alanina (D-Ala-D-Ala) de las cadenas del pentapéptido de los precursores del peptidoglucano. El determinante de la resistencia a la vancomicina mejor estudiado es el operón VanA. Es un sistema de genes concentrados en un plásmido autotransferible que contiene un transposón estrechamente relacionado con Tn1546 (figura 15-3). Existen dos marcos de lectura abiertos que codifican para transposasa y resolvasa; los siete genes restantes codifican para la resistencia a la vancomicina y proteínas accesorias. Los genes *vanR* y *vanS* son dos componentes del sistema regulador sensible a la presencia de vancomicina o de teicoplanina en el ambiente. *vanH*, *vanA* y *vanX* son necesarios para la resistencia a la vancomicina. *vanH* y *vanA* codifican para las proteínas que producen el depsipéptido (D-Ala-D-lactato) en vez del péptido normal (D-Ala-D-Ala). Cuando el depsipéptido se une con al tripéptido UDP-muramyl, forma un precursor pentapéptido que no se une con la vancomicina o a la teicoplanina. El *vanX* codifica una dipeptidasa que agota el dipéptido normal D-Ala-D-Ala del ambiente. *vanY* y *vanZ* no son indispensables para la resistencia a la vancomicina. *vanY* codifica una carboxipeptidasa que desdobla la D-Ala terminal del pentapéptido y va-

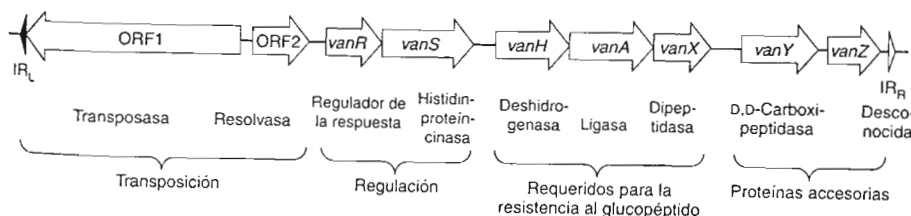


Figura 15-3. Mapa esquemático del transposón Tn1546 del *Enterococcus faecium* que codifica la resistencia a la vancomicina. IRL e IRR indican las unidades repetitivas invertidas izquierda y derecha del transposón, respectivamente. (Adaptado y reproducido con autorización de Arthur M. Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. Antimicrob Agents Chemother 1993;37:1563.)

cía el ambiente de todo pentapéptido funcional que pueda haber sido elaborado por la pared de la célula normal en el proceso de construcción. La función de *vanZ* no se ha definido. *vanA*, *vanB* y *vanD* codifican para D-Ala-D-Lac, mientras que *vanC* y *vanE* lo hacen para D-Ala-D-Ser.

D. Producción de β lactamasa y resistencia a β lactámicos

En EUA y otros países se ha aislado *E. faecalis* productor de β lactamasa de muestras procedentes de pacientes. Existe una gran variación geográfica. Los aislados del noreste y sureste de EUA parecen ser por diseminación de una sola cepa, lo cual sugiere que hubo propagación a otras regiones geográficas. El gen que codifica la β lactamasa enterocócica es el mismo gen encontrado en el *Staphylococcus aureus*. El gen se expresa constitutivamente en los enterococos y es inducible en los estafilococos. Puesto que los enterococos pueden producir cantidades pequeñas de la enzima, parecen ser susceptibles a penicilina y ampicilina en las pruebas habituales de susceptibilidad. La β lactamasa puede detectarse con la utilización de un inóculo abundante y la prueba de cefalosporina cromógena o por otros métodos. La resistencia de mayor grado a la gentamicina con frecuencia acompaña a la producción de β lactamasa. Los genes que codifican ambas propiedades residen en plásmidos de conjugación y pueden transferirse de una cepa de enterococos a otra. Las infecciones causadas por enterococos productores de β lactamasa pueden tratarse mediante una combinación de penicilina con inhibidores de la β lactamasa o con vancomicina (y estreptomicinas) cuando se ha demostrado susceptibilidad *in vitro*.

E. Resistencia a trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ)

Con frecuencia los enterococos muestran susceptibilidad a TMP-SMZ mediante pruebas *in vitro*, pero estos fármacos

no son eficaces para el tratamiento de la infección. Esta discrepancia se debe a que los enterococos pueden utilizar el folato exógeno disponible *in vivo* y por tanto escapar a la inhibición por estos fármacos.

OTROS COCOS GRAMPOSITIVOS NEGATIVOS A CATALASA

Existen cocos grampositivos no estreptocócicos o cocobacilos que en ocasiones causan enfermedad (cuadro 15-3). Estos microorganismos poseen muchas características de crecimiento y morfológicas iguales a las del estreptococo viridans. Pueden ser α hemolíticos o no hemolíticos. La mayor parte de ellos son catalasa-negativos; otros pueden ser débilmente catalasa-positivos. El *Pediococcus* y el *Leuconostoc* son los géneros cuyos miembros se consideran resistentes a la vancomicina. Los lactobacilos son anaerobios que pueden ser aerotolerantes y α hemolíticos y a veces desarrollan formas cocobacilares similares a estreptococos viridans. La mayor parte (90%) de los lactobacilos son resistentes a la vancomicina. Otros microorganismos que en ocasiones causan enfermedad y deben diferenciarse de los estreptococos y los enterococos incluyen los géneros *Lactococcus*, *Aerococcus* y *Gemella*, en general susceptibles a la vancomicina. Antes se consideró al *Stomatococcus mucilaginosus* como un estafilococo, pero es catalasa-negativo; las colonias muestran adherencia distinta al agar.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un hombre de 48 años de edad es admitido en el hospital por presentar estupor. Se trata de una persona

Cuadro 15-3. Cocos no estreptocócicos grampositivos y catalasa negativos y cocobacilos

Género*	Catalasa	Tinción de Gram	Susceptibilidad a la vancomicina	Comentario
<i>Aerococcus</i>	Negativo o débilmente positivo	Cocos en tétradas y racimos	Susceptible	Organismo del ambiente ocasionalmente aislado en sangre, orina o sitios estériles
<i>Gemella</i>	Negativo	Cocos en pares, tétradas, racimos y cadenas cortas	Susceptible	Se decolora con facilidad y puede parecer gramnegativo; crecimiento (en 48 h); forma parte de la flora normal del humano y en ocasiones se aísla de la sangre y de sitios estériles
<i>Leuconostoc</i>	Negativo	Cocos en pares y cadenas; cocobacilos, bacilos	Resistente	Organismos del ambiente; crece sobre agar sangre, se ha aislado de una amplia variedad de infecciones; tiene semejanza con los enterococos
<i>Pediococcus</i>	Negativo	Cocos en pares, tétradas y racimos	Resistente	Presente en productos alimentarios y heces humanas; en ocasiones se aísla de la sangre y del absceso
<i>Lactobacillus</i>	Negativo	Cocobacilos, bacilos en pares y cadenas	Resistente (90%)	Anaerobios aerotolerantes generalmente clasificados como bacilos; normal en la flora vaginal; en ocasiones se encuentra en las infecciones de sitios profundos

*Otros géneros, los cuales es raro o poco común aislarlos de los humanos: *Alloiococcus*, *Globicatella*, *Helcococcus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*.

desaseada y sin hogar que vive en un campamento con otras personas sin hogar quienes llamaron a las autoridades cuando no pudieron reanimarlo con facilidad. El paciente toma mucho vino fortificado y bebió en exceso dos noches antes. Su temperatura es de 38.5 °C y su tensión arterial es de 125/80 mm Hg. El paciente gime cuando se intenta despertarlo. Presenta signos positivos de Kerning y Brudzinski, lo que hace pensar en irritación meníngea. El examen físico y la radiografía de tórax muestran evidencia de consolidación pulmonar del lóbulo inferior izquierdo. Un aspirado endotraqueal produce esputo de color óxido. El examen de una muestra de esputo con tinción de Gram muestra numerosos diplococos grampositivos en forma de lanceta. En la punción lumbar, el líquido cefalorraquídeo es de aspecto nebuloso y tiene un recuento leucocitario de 570/μL con 95% de células polimorfonucleares; en la tinción de Gram se observan numerosos diplococos grampositivos. Con base en esta información, el diagnóstico probable es

- A. Neumonía y meningitis causadas por *Staphylococcus aureus*
- B. Neumonía y meningitis como resultado de *Streptococcus pyogenes*
- C. Neumonía y meningitis por *Streptococcus pneumoniae*
- D. Neumonía y meningitis causadas por *Enterococcus faecalis*
- E. Neumonía y meningitis a consecuencia de *Neisseria meningitidis*

2. Al paciente de la pregunta 1 se le inicia un tratamiento con antibióticos para cubrir varios de los posibles microorganismos. Después, el cultivo de esputo y líquido cefalorraquídeo produce diplococos grampositivos con una concentración inhibitoria mínima (CIM) para penicilina G de > 2 μg/mL. El fármaco que hay que elegir para este paciente hasta llevar a cabo más pruebas de susceptibilidad es

- A. Penicilina G
 - B. Nafcilina
 - C. Trimetoprim-sulfametoxazol
 - D. Gentamicina
 - E. Vancomicina
3. Esta infección (pregunta 1) podría haber sido evitada mediante

- A. Penicilina benzatínica intramuscular profiláctica cada tres semanas
- B. Una vacuna de polisacárido capsular de 23 subtipos
- C. Una vacuna contra los serogrupos A, C e Y, y polisacárido capsular W135
- D. Una vacuna de polisacárido capsular de polirribositol unido por enlace covalente a una proteína
- E. Penicilina V oral diaria

4. ¿A cuál de las siguientes acciones se le atribuye la patogénesis del organismo causante de la infección (pregunta 1)?

- A. Invasión de células que revisten los alveolos y entrada en la circulación de las vénulas pulmonares
- B. Resistencia a la fagocitosis mediada por proteínas M
- C. Migración a los ganglios linfáticos mediastínicos donde ocurre hemorragia
- D. Después de la fagocitosis, el organismo lisa la vacuola fagocítica y se libera cuando la célula fagocítica entra a la circulación
- E. Inhibición de la fagocitosis por una cápsula de polisacárido

5. Una vacuna conjugada de proteína de polisacárido capsular heptavalente para el patógeno de la pregunta 1 se recomienda

- A. Para personas con 18 años de edad y para algunos adultos
 - B. Sólo en exposición a un paciente con enfermedad causada por el organismo
 - C. Para niños con 2 a 23 meses de edad más algunos niños de hasta 59 meses de edad
 - D. Para niños con edades de 24 a 72 meses
 - E. Para todos los grupos de edad mayores de dos meses
6. Un niño de ocho años de edad se queja de un intenso dolor de garganta. En el examen, se observa un exudado blanco-grisáceo en amígdalas y faringe. El diagnóstico diferencial incluye infección estreptocócica del grupo A, infección por virus de Epstein-Barr (EBV), infección aguda por adenovirus y difteria. (También se incluiría faringitis por *Neisseria gonorrhoeae*, pero el paciente no ha sido víctima de abuso sexual.) La causa más probable de la faringitis del niño es

- A. Un coco grampositivo catalasa negativo que crece en cadenas
- B. Un virus RNA de sentido positivo de una sola hebra
- C. Un coco grampositivo catalasa positivo que crece en grupos
- D. Un bacilo grampositivo catalasa negativo
- E. Un virus RNA de doble hebra

7. Un mecanismo primario al cual se deba la patogénesis de la enfermedad del niño (pregunta 6) es

- A. Un incremento neto en el monofosfato de adenosina cíclico intracelular
- B. Acción de la proteína M
- C. Acción de la proteasa IgA1
- D. Acción de la enterotoxina A
- E. Desactivación del factor de elongación 2

8. Una mujer de 40 años de edad experimenta jaqueca aguda y fiebre. Su examen neurológico es normal. Una exploración del cerebro muestra una lesión creciente en anillo del hemisferio izquierdo. En la intervención quirúrgica se encuentra un absceso en el cerebro. El cultivo del líquido del absceso produce un bacilo gramnegativo anaerobio (*Bacteroides fragilis*) y un coco grampositivo catalasa negativo que en la tinción de Gram está en pares y cadena. El organismo es β hemolítico y forma colonias muy pequeñas (< 0.5 mm de diámetro). Según una persona tenía un olor como de caramelo de mantequilla. Se aglutina con antisero del grupo F. El organismo más probable es

- A. *Streptococcus pyogenes* (grupo A)
- B. *Enterococcus faecalis* (grupo D)
- C. *Streptococcus agalactiae* (grupo B)
- D. Grupo de *Streptococcus anginosus*
- E. *Staphylococcus aureus*

9. El método simple más importante para clasificar y especializar a los estreptococos es

- A. Aglutinación por medio de antiseros contra la sustancia específica de grupo de la pared celular
- B. Prueba bioquímica
- C. Propiedades hemolíticas (α, β, no hemolíticas)
- D. Reacción de hinchazón capsular (reacción de tumefacción capsular)
- E. Ninguna de las anteriores

10. Una niña de ocho años de edad desarrolla corea de Sydenham ("baile de San Vito") con tics faciales rápidos y descoordinados y movimientos involuntarios sin

sentido de sus extremidades, muy sugestivos de fiebre reumática aguda. La paciente no presenta otras manifestaciones importantes de fiebre reumática (carditis, artritis, nódulos subcutáneos, exantema cutáneo). El cultivo de un exudado de la garganta de la paciente da resultados negativos para *Streptococcus pyogenes* (estreptococos del grupo A). Sin embargo, ella, su hermano y su mamá tuvieron dolor de garganta hace dos meses. Qué prueba positiva indicaría infecciones recientes por *Streptococcus pyogenes*:

- A. Título del anticuerpo antiestreptolisina S
- B. Reacción en cadena de la polimerasa para anticuerpos contra proteína M
- C. Título del anticuerpo antiestreptolisina O
- D. Hidrólisis de esculina
- E. Título del anticuerpo ácido antihialurónico

Respuestas: 1 = C; 2 = E; 3 = B; 4 = E; 5 = C; 6 = A; 7 = B; 8 = D; 9 = E; 10 = C

REFERENCIAS

- Bisno AL: Nonsuppurative poststreptococcal sequelae: rheumatic fever and glomerulonephritis. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (editors). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Bisno AL, Stevens DL: *Streptococcus pyogenes* (including streptococcal toxic shock syndrome and necrotizing fasciitis). In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (editors). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Facklam R, Elliott JA: Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, gram-positive cocci, excluding the streptococci and enterococci. Clin Microbiol Rev 1995;8:479.
- Murray BE: Vancomycin-resistant enterococcal infections. N Engl J Med 2000;342:710.
- Musher DM: *Streptococcus pneumoniae*. In: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE (editors). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Ruoff KL, Whitley RA, Beighton D: *Streptococcus*. In: Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.

Las en-
bacio-
de hum-
ros (p-
Klebsi-
nismo-
la flor-
tanto c-
son pa-
micro-
de carb-
ja y pr-
Enter-
terias
lo, per-
colifor-

Clasi-

Las en-
gram-
cuentra-
con es-
teroba-
desde
evoluti-
han de-
sin em-
tivas c-
con po-
nómico
nombr-
cas. En-
tores);
Press,
ción de
L.
caracte-
tilidad
cen so-
adición
bien en-

Bacilos entéricos gramnegativos (*enterobacteriaceae*)

Las enterobacteriáceas son un vasto grupo heterogéneo de bacilos gramnegativos cuyo hábitat natural es el intestino de humanos y animales. Esta familia incluye muchos géneros (p. ej., *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* y otros). Algunos microorganismos entéricos, como *Escherichia coli*, forman parte de la flora normal e incidentalmente causan enfermedad; en tanto que otros, salmonelas y shigelas, con gran frecuencia son patógenas para humanos. Las enterobacteriáceas son microorganismos aerobios, fermentan una amplia variedad de carbohidratos, poseen una estructura antigénica compleja y producen varias toxinas y otros factores de virulencia. Enterobacteriáceas, bacilos entéricos gramnegativos y bacterias entéricas son los términos empleados en este capítulo, pero a veces a estas bacterias también se les denomina coliformes.

Clasificación

Las enterobacteriáceas son el grupo más común de bacilos gramnegativos cultivado en el laboratorio clínico y se encuentran entre las bacterias patógenas más comunes, junto con estafilococos y estreptococos. La taxonomía de las enterobacteriáceas es compleja y ha cambiado con rapidez desde la introducción de técnicas que miden la distancia evolutiva, como hibridación y secuenciación de DNA. Se han definido más de 25 géneros y 110 especies o grupos; sin embargo, las enterobacteriáceas clínicamente significativas comprenden 20 a 25 especies, otras especies aparecen con poca frecuencia. En este capítulo, los refinamientos taxonómicos se reducen al mínimo y en general se emplean los nombres comunes mencionados en las publicaciones médicas. En los capítulos 41, 42 y 44, de Murray PR *et al.* (editores); *Manual de microbiología clínica*, 8a. edición. ASM Press, 2003 se presenta un criterio integral de la identificación de enterobacteriáceas.

La familia *Enterobacteriaceae* muestra las siguientes características: son bacilos gramnegativos dotados de motilidad por flagelos peritricos o carentes de motilidad; crecen sobre peptonas o medios con extracto de carne sin adición de cloruro de sodio ni otros complementos; crecen bien en agar de MacConkey; crecen en condiciones aeró-

bicas y anaeróbicas (son anaerobios facultativos); fermentan la glucosa en vez de oxidarla y con frecuencia producen gas; son catalasa-positivos, oxidasa-negativos y reducen el nitrato a nitrito; poseen un contenido de 39 a 59% G + C en el DNA. En el cuadro 16-1 se presentan algunos ejemplos de pruebas bioquímicas empleadas para diferenciar las especies de enterobacteriáceas. Existen muchas otras pruebas además de las listadas. En EUA se utilizan ampliamente con este propósito estuches ("kits") preparados disponibles en el comercio.

En los siguientes párrafos se describen y analizan de manera breve los principales grupos de enterobacteriáceas. Las características específicas de salmonelas, shigelas y otros bacilos gramnegativos entéricos importantes médicamente y la enfermedad que causan se analizan por separado posteriormente en este capítulo.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las enterobacteriáceas son bacilos gramnegativos cortos. Cuando crecen *in vitro* sobre medio sólido se observa la morfología característica, pero en muestras clínicas la morfología es muy variable. Las cápsulas son grandes y regulares en la *Klebsiella*, menos en *Enterobacter* y poco comunes en otras especies.

B. Cultivo

La *E. coli* y la mayor parte de las otras bacterias entéricas forman colonias lisas, circulares, convexas, con bordes bien diferenciados. Las colonias de enterobacter son similares pero un poco más mucoides. Las colonias de *klebsiella* son grandes, muy mucoides y tienden a confluir cuando la incubación se prolonga. Las salmonelas y las shigelas producen colonias similares a la *E. coli*, pero no fermentan la lactosa. Algunas cepas de *E. coli* producen hemólisis en agar sangre.

C. Características del crecimiento

Para la diferenciación bioquímica pueden emplearse los patrones de fermentación de los carbohidratos y la actividad de los aminoácido descarboxilasas y otras enzimas (cua-

Cuadro 16-1. Ejemplos de reacciones bioquímicas de bacilos entéricos gramnegativos específicos.*

	Producción de indol	Rojo de metilo	Voges-Proskauer	Citrato de Simmons	Sulfuro de hidrógeno	Hidrólisis de urea	Fenilalanina desaminasa	Lisina descarboxilasa	Arginina dihidrolasa	Ornitina descarboxilasa	Motilidad (36 °C)	Hidrólisis de gelatina (22 °C)	D-Glucosa, ácido	D-Glucosa, gas	Fermentación de lactosa	Fermentación de sacarosa	Fermentación de D-mantol	Fermentación de dulcitol	Fermentación de D-sorbitol	Fermentación de L-arabinosa	Fermentación de rafinosa	Fermentación de L-ramnosa	Fermentación de D-xilosa	Fermentación de melibiosa
<i>Citrobacter freundii</i>	5	100	0	95	80	70	0	0	65	20	95	0	100	95	50	30	99	55	0	98	100	30	99	50
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	5	98	95	0	2	0	0	98	0	97	0	100	100	95	100	99	5	98	100	100	99	100	99
<i>Escherichia coli</i>	98	98	0	1	1	1	0	0	17	65	95	0	100	95	95	50	98	60	5	94	99	50	80	75
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	99	20	95	95	0	95	0	0	0	0	0	0	100	97	98	99	99	30	90	99	99	99	99	99
<i>Klebsiella oxytoca</i>	98	97	0	0	5	98	95	0	0	0	0	0	100	90	100	100	99	55	99	98	100	100	100	99
<i>Morganella morganii</i>	2	97	50	65	98	98	98	0	0	99	95	0	100	96	2	15	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	0	100	0	25	50	0	98	0	55	100	95	0	100	95	0	0	98	5	0	0	0	1	1	98
<i>Salmonella Choleraesuis</i>	0	100	0	0	97	0	0	98	3	0	97	0	100	0	1	1	100	0	0	99	2	0	0	82
<i>Salmonella Typhi</i>	1	100	0	95	95	1	0	98	70	97	95	0	100	96	1	1	100	96	0	95	99	2	95	95
<i>Salmonella</i> la mayoría de los serotipos	1	20	98	98	0	15	0	99	0	99	97	90	100	55	2	99	99	0	40	99	0	2	0	7
<i>Serratia marcescens</i>	0	100	0	0	0	0	0	0	2	98	0	0	100	0	2	1	99	0	0	95	3	75	2	25
<i>Shigella sonnei</i>	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	2	0	0	93	2	0	60	50	5	2	50
<i>S. dysenteriae</i>	50	100	0	0	0	0	0	0	5	1	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. flexneri</i> , <i>S. boydii</i>																								

*Adaptado de Farmer JJ III et al: Biochemical identification of new species and biogroups of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. J Clin Microbiol 1984;21:46.



dro 16-1). Algunas pruebas, por ejemplo producción de indol a partir de triptófano, se emplean con regularidad en sistemas de identificación rápida, en tanto que otras, como la reacción de Voges-Proskauer (producción de acetilmetilcarbinol a partir de la glucosa) se utilizan con menor frecuencia. Los cultivos sobre medios "diferenciales" con colorantes especiales y carbohidratos (p. ej., eosina-azul de metileno [EMB; del inglés *eosin-methylene blue*], de MacConkey o medio de desoxicolato) distinguen las colonias fermentadoras de lactosa (pigmentada) de las no fermentadoras de lactosa (no pigmentada) y permiten una identificación presunta rápida de las bacterias entéricas (cuadro 16-2).

Muchos medios complejos se han diseñado para ayudar a la identificación de las bacterias entéricas. Uno de estos medios es el agar hierro triple azúcar (TSI, del inglés *triple sugar iron*), con frecuencia empleado para diferenciar salmonelas y shigelas de otros bacilos entéricos gramnegativos en los coprocultivos. El medio contiene 0.1% de glucosa, 1% de sacarosa, 1% de lactosa, sulfato ferroso (para detectar la producción de H_2S), extractos de tejido (sustrato proteínico para crecimiento) y un indicador de pH (rojo fenol). Se vierte en un tubo de ensayo para producir medio con una porción inclinada y un fondo profundo y se inoculan las bacterias introduciéndolas por picadura hasta el fondo. Si sólo se fermenta la glucosa, la parte inclinada y el fondo al principio se tornan amarillos por la pequeña cantidad de ácido producida; conforme los productos de la fermentación son subsecuentemente oxidados a CO_2 y H_2O y liberados, y continúa la descarboxilación oxidativa de las proteínas con formación de aminas, el agar inclinado se torna alcalino (rojo). Cuando fermentan lactosa o sacarosa se produce tanto ácido que el medio inclinado y el fondo permanecen de color amarillo (ácido). Las salmonelas y las shigelas suelen producir un cambio alcalino en la parte inclinada y un fondo ácido. Aunque *Proteus*, *Providencia* y *Morganella* producen un cambio alcalino en la porción inclinada y un fondo ácido, pueden identificarse por la formación rápida de color rojo en el medio de urea de Christensen. Los microorganismos productores de ácido sobre la porción inclinada y ácido y gas (burbujas) en el fondo son otras bacterias entéricas.

1. *Escherichia*: por lo general, la *E. coli* ocasiona reacciones positivas para indol, lisina descarboxilasa y fer-

mentación del manitol, y produce gas a partir de la glucosa. Los aislados a partir de la orina pueden identificarse con rapidez como *E. coli* por la hemólisis sobre agar sangre, la morfología típica de las colonias con "brillo" iridiscente sobre un medio diferencial como agar EMB, y la prueba positiva en la mancha de indol. Más de 90% de las *E. coli* aisladas son positivas para β glucuronidasa con el empleo del sustrato 4-metilumbiliferil- β -glucurónido (MUG). Los aislados de otros sitios anatómicos diferentes del aparato urinario, con propiedades características (además de las pruebas negativas de oxidasa) casi siempre se confirman como *E. coli* mediante una prueba MUG positiva.

2. **Grupo klebsiela-enterobacter-serratia**: las especies de *Klebsiella* muestran crecimiento mucoso, grandes cápsulas de polisacáridos, ausencia de motilidad y por lo general dan pruebas positivas para la lisina descarboxilasa y para el citrato. La mayor parte de las especies de *Enterobacter* dan resultado positivo en las pruebas de motilidad, citrato y omítina descarboxilasa y producen gas a partir de la glucosa. El *Enterobacter aerogenes* posee una cápsula pequeña. La *Serratia* produce D-Nasa, lipasa y gelatinasa. *Klebsiella*, *enterobacter* y *serratia* suelen dar reacción de Voges-Proskauer positiva.
3. **Grupo proteus-morganella-providencia**: los miembros de este grupo desaminan la fenilalanina, son motiles, crecen sobre medio de cianuro de potasio (KCN) y fermentan la xilosa. Las especies de *Proteus* se mueven activamente por medio de flagelos peritricos y dan como resultado *swarming* sobre medio sólido, a menos que se inhiban mediante sustancias químicas, por ejemplo, alcohol feniletílico o medio CLED (cistina-lactosa-electrolito-deficiente). Las especies de *Proteus* y la *Morganella morganii* son positivos a ureasa, en tanto que las especies de *Providencia* en general son ureasa-negativas. El grupo *Proteus-providencia* fermenta la lactosa lentamente o no la fermenta en absoluto. El *Proteus mirabilis* es más susceptible a los antimicrobianos, incluso las penicilinas, en comparación con otros miembros del grupo.
4. **Citrobacter**: por lo general, estas bacterias son positivas a citrato y difieren de las salmonelas en que no descarboxilan la lisina. Si acaso fermentan la lactosa lo hacen muy lentamente.

Cuadro 16-2. Identificación presuntiva y rápida, de bacterias entéricas gramnegativas

Fermentación rápida de lactosa	Fermentación lenta de lactosa	Sin fermentación de lactosa
<i>Escherichia coli</i> : brillo metálico sobre medio diferencial; dotado de motilidad; colonias no viscosas, aplanadas	<i>Edwardsiella</i> , <i>Serratia</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Arizona</i> , <i>Providencia</i> , <i>Erwinia</i>	Especies de <i>Shigella</i> : carentes de motilidad, no forman gas a partir de la glucosa
<i>Enterobacter aerogenes</i> : colonias elevadas, sin brillo metálico; con frecuencia motiles; crecimiento más viscoso		Especies de <i>Salmonella</i> : dotado de motilidad; generalmente forman ácido y gas a partir de la glucosa
<i>Klebsiella pneumoniae</i> : muy viscoso, crecimiento mucoso, no motil		Especies de <i>Proteus</i> : <i>swarming</i> sobre agar; hidrólisis rápida de la urea (olor amoniacal)
		Especies de <i>Pseudomonas</i> (capítulo 17) pigmentos solubles, fluorescencia azul-verdosa; olor dulzón

5. **Shigela:** las shigelas no poseen motilidad y en general no fermentan la lactosa, pero sí otros carbohidratos, produciendo ácido aunque no gas. No producen H₂S. Las cuatro especies de *Shigella* están muy relacionadas con la *E. coli*. Muchas comparten antígenos comunes entre sí y con otras bacterias entéricas (p. ej., *Hafnia alvei* y *Plesiomonas shigelloides*).
6. **Salmonela:** las salmonelas son bacilos dotados de motilidad que característicamente fermentan glucosa y manosa sin producción de gas, pero no fermentan lactosa o sacarosa. La mayor parte de las salmonelas producen H₂S. Con frecuencia son patógenas para animales cuando se ingieren. En las salmonelas se incluye el grupo Arizona.
7. **Otras enterobacteriáceas:** en el capítulo 20 se estudiarán las especies *Yersinia*. Otros géneros identificados algunas ocasiones en infecciones humanas incluyen *Edwardsiella* y *Ewingella*, *Hafnia*, *Cedecea* y *Khuyvera*.

Estructura antigénica

Las enterobacteriáceas poseen una compleja estructura antigénica. Se han clasificado más de 150 diferentes antígenos somáticos O (lipopolisacáridos) termolábiles, más de 100 antígenos K (capsulares) termolábiles y más de 50 antígenos H (flagelares) (figura 16-1). En la *Salmonella typhi*, los antígenos capsulares se denominan antígenos Vi.

Los antígenos O son la parte más externa de la pared lipopolisacárida de la célula y constan de unidades repetidas de polisacáridos. Algunos polisacáridos O contienen azúcares únicos. Los antígenos O son resistentes al calor y al alcohol, generalmente se detectan mediante aglutinación bacteriana. Los anticuerpos a los antígenos O son predominantemente de clase IgM.

Aunque cada género de enterobacteriáceas se asocia con grupos específicos O, un solo microorganismo puede ser portador de varios antígenos O. Por tanto, casi todas las shigelas comparten uno o más antígenos O con la *E. coli*. La *E. coli* puede mostrar reacción cruzada con algunas es-

pecies de *Providencia*, *Klebsiella* y *Salmonella*. En ocasiones, los antígenos O pueden asociarse con enfermedad humana específica, por ejemplo, la *E. coli* de tipos O específicos se encuentra en algunos casos de diarrea y en infecciones del aparato urinario.

Los antígenos K son antígenos O externos sobre algunas, pero no todas, las enterobacteriáceas. Algunos son polisacáridos, incluso los antígenos K de la *E. coli*; otros son proteínas. Los antígenos K pueden interferir con la aglutinación por antisero O, y a veces se asocian con virulencia (p. ej., las cepas de *E. coli* productoras de antígeno K1 son importantes en la meningitis neonatal, y los antígenos K de la *E. coli* adhieren las bacterias a las células epiteliales antes de la invasión de los aparatos gastrointestinal o urinario).

Las klebsiellas forman cápsulas grandes que constan de polisacáridos (antígenos K) que cubren los antígenos somáticos (O o H) y pueden identificarse mediante pruebas de tumefacción de la cápsula con antiseros específicos. Los tipos capsulares 1 y 2, en particular, causan infecciones del aparato respiratorio humano; y los de tipo 8, 9, 10 y 24, de las vías urinarias.

Los antígenos H se localizan sobre los flagelos y se desnaturalizan o retiran mediante calor o alcohol. En las variedades de bacterias dotadas de motilidad se les puede conservar mediante tratamiento con formalina. Estos antígenos H se aglutinan con anticuerpos H, principalmente IgG. Los determinantes de los antígenos H son una función de la secuencia de aminoácidos en la proteína flagelar (flagelina). Dentro de un solo serotipo pueden presentarse antígenos flagelares en una de dos variantes, denominadas fase 1 (designada con letras minúsculas) y fase 2 (designada con números arábigos), como se muestra en el cuadro 16-4. Los microorganismos tienden a cambiar de una fase a la otra; esto se denomina variación de fase. Los antígenos H sobre la superficie de la bacteria a veces interfieren con la aglutinación por anticuerpos anti-O.

Existen muchos ejemplos de estructuras antigénicas traslapadas entre enterobacteriáceas y otras bacterias. La mayor parte de las enterobacteriáceas comparten el antígeno O14 de la *E. coli*. El polisacárido capsular tipo 2 de las klebsiellas es muy similar al polisacárido tipo 2 del neumococo. Algunos antígenos K presentan reacción cruzada con algunos antígenos capsulares de *Haemophilus influenzae* o de *Neisseria meningitidis*. Así, la *E. coli* O75:K100:H5 puede inducir anticuerpos que reaccionan con el *H. influenzae* tipo b.

La clasificación antigénica de las enterobacteriáceas con gran frecuencia indica la presencia de cada antígeno específico. Así, la fórmula antigénica de una *E. coli* puede ser O55:K5:H21 y la de la *Salmonella schottmülleri* es O14.5,12:Hb:1.2.

Colicinas (bacteriocinas)

Muchos microorganismos gramnegativos producen bacteriocinas. Estas sustancias, bacteriocidas como los virus, son producidas por ciertas cepas de bacterias activas contra otras cepas de la misma especie o de alguna estrechamente relacionada. Su producción está controlada por plásmidos. Las colicinas son producidas por la *E. coli*, las marcescinas, por

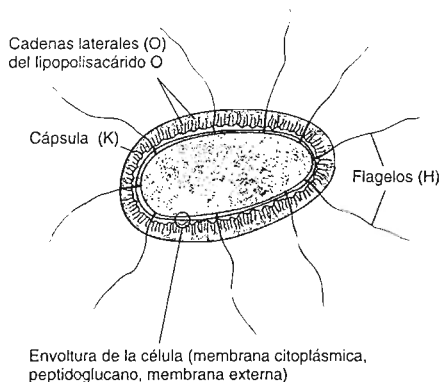


Figura 16-1. Estructura antigénica de las enterobacteriáceas.

serrata, y
ductoras d
riocina: p
"tipificar"

Toxinas

La mayor p
polisacárid
cias, endot
que se resu
gramnegati
cia clínica.
secciones s

ENFERMEDADES POR ENTEROBACTERIACEAS Y SHIGELAS

Microorganismos

La *E. coli* es
tulo 11). O
Klebsiella,
cias de *Serr*
normal, pero
veces se enc
de la flora r
genital. Por
enfermedad
mal del intest
ción de impo
pero las otra
comiales y en
se convierten
ra de sus siti
comunes. Lo
mente impor
sitios en la c
mico (p. ej.,
puede afectar
Haemophilus
oportunistas.
inadecuadas
tud, en la etap
inmunesupre
O1) pueden pr
cia clínica;
sanguíneo y c

Patogenia

Las manifest
y otras bacter
por los síntom
procesos caus

serratia, y las piocinas, por pseudomonas. Las cepas productoras de bacteriocinas son resistentes a su propia bacteriocina; por tanto, se pueden emplear bacteriocinas para "tipificar" los microorganismos.

Toxinas y enzimas

La mayor parte de las bacterias gramnegativas poseen lipopolisacáridos complejos en su pared celular. Estas sustancias, endotoxinas, muestran varios efectos fisiopatológicos que se resumen en el capítulo 9. Muchas bacterias entéricas gramnegativas también producen exotoxinas de importancia clínica. Algunas toxinas específicas se estudian en las secciones siguientes.

ENFERMEDADES CAUSADAS POR ENTEROBACTERIAS DIFERENTES DE SALMONELLA Y SHIGELLA

Microorganismos causantes

La *E. coli* es un miembro de la flora intestinal normal (capítulo 11). Otras bacterias entéricas (*Proteus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Providencia*, *Citrobacter* y especies de *Serratia*) también forman parte de la flora intestinal normal, pero son mucho menos comunes que la *E. coli*. A veces se encuentran pocas bacterias entéricas como parte de la flora normal de los aparatos respiratorio superior y genital. Por lo general, las bacterias entéricas no causan enfermedad e incluso pueden contribuir a la función normal del intestino y a la nutrición. Cuando se presenta infección de importancia clínica, generalmente se debe a *E. coli*, pero las otras bacterias entéricas causan infecciones nosocomiales y en ocasiones en la comunidad. Las bacterias sólo se convierten en patógenas cuando alcanzan los tejidos fuera de sus sitios normales en el intestino o en otros menos comunes. Los sitios más frecuentes de infección clínicamente importante son aparato urinario, vías biliares y otros sitios en la cavidad abdominal, pero cualquier sitio anatómico (p. ej., sangre, próstata, pulmón, hueso, meninges) puede afectarse. Algunas bacterias entéricas (p. ej., *Serratia marcescens*, *Enterobacter aerogenes*) son patógenos oportunistas. Cuando las defensas normales del huésped son inadecuadas (particularmente en la infancia o en la senectud, en la etapa terminal de otras enfermedades, después de inmunosupresión o con catéter uretral o venoso permanente) pueden producirse infecciones localizadas de importancia clínica; las bacterias a veces alcanzan el torrente sanguíneo y causan septicemia.

Patogenia y datos clínicos

Las manifestaciones clínicas de las infecciones con *E. coli* y otras bacterias entéricas dependen del sitio infectado, y por los síntomas y signos no pueden diferenciarse de los procesos causados por otras bacterias.

A. *E. coli*

1. **Infecciones del aparato urinario:** la *E. coli* es la causa más común de infección del aparato urinario y es responsable de casi 90% de las infecciones urinarias primarias en mujeres jóvenes (capítulo 48). Los síntomas y signos incluyen poliuria, disuria, hematuria y piuria. El dolor en el flanco se asocia con infección de la parte superior del aparato. Ninguno de estos síntomas o signos es específico de la infección por *E. coli*. Las infecciones de las vías urinarias pueden provocar bacteriemia con signos clínicos de septicemia.

Por lo general, la *E. coli* nefropatógena produce una hemolisina. La mayor parte de las infecciones se deben a un pequeño número de tipos de antígeno O de *E. coli*. El antígeno K parece ser importante en la patogenia de la infección de la parte superior del aparato. La pielonefritis se asocia con un tipo específico de *pili*, los *pili P*, que se unen con la sustancia P del grupo sanguíneo.

2. **Enfermedades diarreicas asociadas con *E. coli*:** la *E. coli* causante de diarrea es muy común en todo el mundo. Estas *E. coli* se clasifican por las características de sus propiedades de virulencia (véase después) y cada grupo causa la enfermedad por un mecanismo diferente. Las propiedades de adherencia a las células epiteliales de los intestinos grueso y delgado son codificadas por genes situados en los plásmidos. De manera similar, con frecuencia las toxinas son mediadas por plásmidos o por fagos. Algunos aspectos clínicos de la enfermedad diarreica se estudian en el capítulo 48.

E. coli enteropatógena (ECEP) es causa importante de diarrea en los lactantes, particularmente en los países en desarrollo. La ECEP se asoció antes con brotes de diarrea en guarderías en los países desarrollados. La ECEP se adhiere a las células mucosas del intestino delgado. Los factores mediados cromosómicamente promueven adherencia firme. Hay pérdida de las microvelosidades (borramiento), formación de pedestales de actina filamentosos o estructuras caliciformes, y en ocasiones, las ECEP penetran a las células mucosas. En las micrografías electrónicas de biopsia de las lesiones del intestino delgado pueden observarse lesiones características. La infección por ECEP provoca diarrea acuosa, generalmente autolimitada, pero puede ser crónica. La diarrea por ECEP se ha vinculado con múltiples serotipos específicos de *E. coli*; las cepas se identifican mediante la tipificación del antígeno O y en ocasiones del antígeno H. También se puede desarrollar un modelo de infección en dos etapas con células HEP-2. Las pruebas para identificar la ECEP se llevan a cabo en laboratorios de referencia. El tratamiento con antibióticos puede acortar la duración de la diarrea por ECEP y curarla cuando es crónica.

La *E. coli* enterotoxigénica (ECET) es causa común de la "diarrea del viajero" y agente etiológico importante de diarrea en lactantes de los países en desarrollo. Factores específicos de colonización de la ECET promueven en humanos la adherencia a las células epiteliales del intestino delgado. Algunas cepas de ECET producen una exotoxina termolábil (LT) (PM 80 000) bajo control genético de un plásmido. Su subunidad B se une con el gangliósido GM₁ del borde en

cepillo de las células epiteliales del intestino delgado y facilita la entrada de la subunidad A (PM 26 000) a la célula, donde activa la adenililciclase. Esto incrementa notablemente la concentración local del monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), que a su vez produce hipersecreción intensa y prolongada de agua y cloruros e inhibe la reabsorción de sodio. La luz intestinal se distiende con el líquido y sobreviene aumento de la peristalsis y diarrea que duran varios días. La LT es antigénica y presenta reacción cruzada con la enterotoxina del *Vibrio cholerae*; estimula la producción de anticuerpos neutralizantes en el suero (y tal vez sobre la superficie del intestino) de personas previamente infectadas con la *E. coli* enterotoxigénica. Las personas residentes en regiones donde estos microorganismos son muy prevalentes (p. ej., algunos países en desarrollo) tal vez poseen anticuerpos y son menos susceptibles a sufrir diarrea con las nuevas exposiciones a la *E. coli* productora de LT. Las pruebas para LT incluyen las siguientes: 1) acumulación de líquido en el intestino de animales de laboratorio; 2) cambios celulares típicos en el cultivo de células ováricas de cobayo chino y en otras líneas celulares; 3) estimulación de la producción de esteroides en cultivos de células de tumor suprarrenal, y 4) pruebas de enlace e inmunitarias con antisueños LT estandarizados. Estas pruebas sólo se practican en laboratorios de referencia.

Algunas cepas de la ECET producen la **enterotoxina termoestable ST₁** (PM 1 500 a 4 000) bajo control genético de un grupo heterogéneo de plásmidos. La ST₁[a] activa la guanililciclase en las células epiteliales entéricas y estimula la secreción de líquido. Muchas cepas positivas a ST₁ también producen LT. Las cepas con ambas toxinas producen diarrea más grave.

Los plásmidos portadores de los genes para enterotoxinas (LT, ST) también pueden portar genes para factores de colonización que facilitan la adhesión de las cepas de *E. coli* al epitelio intestinal. Factores de colonización reconocidos se presentan con particular frecuencia en algunos serotipos. Ciertos serotipos de la ECET se encuentran en todo el mundo; otros presentan distribución limitada. Potencialmente cualquier *E. coli* puede adquirir un plásmido que codifique para enterotoxina. No hay una asociación definida de la ECET con las cepas de la ECEP causantes de diarrea en niños. De igual manera, no hay relación entre cepas enterotoxigénicas y cepas capaces de invadir las células del epitelio intestinal.

Se recomienda cautela en la selección y con el consumo de alimentos potencialmente contaminados con ECET para ayudar a prevenir la diarrea del viajero. La profilaxis antimicrobiana puede ser eficaz, pero a veces incrementa la resistencia bacteriana a los antibióticos y tal vez no debe recomendarse en todos los casos. Una vez presente la diarrea, el tratamiento con antibióticos reduce de manera eficaz la duración de la enfermedad.

La *E. coli* **enterohemorrágica (ECEH)** produce verotoxina, así denominada por su efecto citotóxico sobre las células Vero, una línea de células renales del mono verde africano. Existen al menos dos variantes antigénicas de la toxina. La ECEH se ha asociado con colitis hemorrágica, una variedad grave de diarrea; y con el sín-

drome urémico hemolítico, enfermedad capaz de producir insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica microangiopática y trombocitopenia. La verotoxina tiene muchas propiedades similares a la toxina Shiga producida por algunas cepas de la *Shigella dysenteriae* tipo 1; sin embargo, las dos toxinas son antigénica y genéticamente distintas. De los serotipos de la *E. coli* que producen verotoxina, el más común es O157:H7 y el único que puede identificarse en muestras clínicas. La ECEH O157:H7 no emplea sorbitol, a diferencia de la mayor parte de las otras *E. coli* y es negativa sobre agar sorbitol MacConkey (tiene sorbitol en lugar de lactosa); la cepa O157:H7 también es negativa en la prueba MUG (véase antes). Para identificar las cepas O157:H7 se utilizan anticuerpos específicos. Las pruebas para la verotoxina se practican en laboratorios de referencia. Muchos casos de colitis hemorrágica y sus complicaciones asociadas pueden prevenirse mediante cocción completa de la carne molida de ternera.

La *E. coli* **enteroinvasora (ECEI)** produce una enfermedad muy similar a la shigelosis. La enfermedad se presenta más comúnmente en los niños de los países en desarrollo y en las personas quienes viajan a dichos países. Igual que la *Shigella*, las cepas de ECEI no fermentan la lactosa, o la fermentan tardíamente, y carecen de motilidad. La ECEI produce la enfermedad al invadir las células epiteliales de la mucosa intestinal.

La *E. coli* **enteroagregativa (ECEA)** causa diarrea aguda y crónica (> 14 días de duración) en personas de los países en desarrollo. Estos organismos también son causantes de enfermedades producidas por alimentos contaminados, en países industrializados. Se caracterizan por su patrón de adherencia a células humanas. EACE produce toxina parecida a ST (véase antes) y una hemolisina.

3. **Septicemia:** cuando las defensas normales del huésped son inadecuadas, la *E. coli* puede alcanzar el torrente sanguíneo y causar septicemia. Los recién nacidos a veces son muy susceptibles a la septicemia por *E. coli* debido a que carecen de anticuerpos IgM. La septicemia también puede presentarse como consecuencia de infección del aparato urinario.
4. **Meningitis:** la *E. coli* y los estreptococos del grupo B son las principales causas de meningitis en los lactantes. Casi 75% de la *E. coli* procedente de casos de meningitis posee el antígeno K1, el cual muestra reacción cruzada con el polisacárido capsular del grupo B de la *N. meningitidis*. El mecanismo de virulencia asociado con el antígeno K1 aún no se comprende.

B. Klebsiella-Enterobacter-Serratia; Proteus-Morganella-Provencia; y Citrobacter

La patogenia de la enfermedad causada por estos grupos de bacilos entéricos gramnegativos es similar a la de los factores inespecíficos en la enfermedad causada por la *E. coli*.

1. **Klebsiella:** la *K. pneumoniae* se encuentra en el aparato respiratorio y en las heces de casi 5% de las personas sanas. Produce una pequeña proporción (alrededor de 1%) de las neumonías bacterianas y puede causar condensa-

ción necrosante hemorrágica extensa del pulmón. En ocasiones provoca infección del aparato urinario y bacteriemia a partir de las lesiones focales en pacientes debilitados. Otros entéricos también pueden producir neumonía. La *K. pneumoniae* y la *Klebsiella oxytoca* producen infecciones nosocomiales. Otras dos *Klebsiella* se asocian con estados inflamatorios de las vías respiratorias superiores: la *Klebsiella ozaenae* aislada de la mucosa nasal en casos de ozena, atrofia progresiva y fétida de las mucosas; y la *Klebsiella rhinoscleromatis* del rinocleroma, un granuloma destructor de la nariz y la faringe.

2. **Enterobacter aerogenes:** este microorganismo posee cápsula pequeña, puede vivir libremente y también en el intestino, causa infecciones de las vías urinarias y septicemia.
3. **Serratia:** la *S. marcescens* es un patógeno oportunista común en pacientes hospitalizados. La *Serratia* (por lo general no pigmentada) causa neumonía, bacteriemia y endocarditis, especialmente en drogadictos y pacientes hospitalizados. Sólo cerca de 10% de los aislados forman el pigmento rojo (prodigiosina) que caracteriza ampliamente a *Serratia*. Con frecuencia, la *S. marcescens* es resistente a múltiples aminoglucósidos y penicilinas; las infecciones pueden tratarse con cefalosporinas de tercera generación.
4. **Proteus:** las especies de *Proteus* producen infecciones en humanos sólo cuando la bacteria abandona el intestino. Se les encuentra en infecciones del aparato urinario y producen bacteriemia, neumonía e infecciones focales en pacientes debilitados o en quienes son tratados con infusiones intravenosas. El *P. mirabilis* causa infecciones del aparato urinario y en ocasiones otras infecciones. El *Proteus vulgaris* y la *Morganella morganii* son importantes patógenos nosocomiales.

Las especies de *Proteus* producen ureasa y, por consiguiente, hidrolizan con rapidez la urea con liberación de amoníaco. Así, en las infecciones del aparato urinario con *Proteus*, la orina se vuelve alcalina, lo cual promueve la formación de cálculos y es casi imposible acidificar la orina. La rápida motilidad de *Proteus* puede contribuir a su capacidad para invadir el aparato urinario.

Las cepas de *Proteus* varían mucho en la susceptibilidad a los antibióticos. El *P. mirabilis* casi siempre se inhibe con penicilinas; los antibióticos más activos para otros miembros del grupo son los aminoglucósidos y las cefalosporinas.

5. **Providencia:** las especies de *Providencia* (*Providencia rettgeri*, *Providencia alcalifaciens* y *Providencia stuartii*) son miembros de la flora intestinal normal. Todas causan infecciones del aparato urinario y en ocasiones otras infecciones; casi siempre son resistentes a la terapéutica antimicrobiana.
6. **Citrobacter:** puede causar infección del aparato urinario y septicemia.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Orina, sangre, pus, líquido cefalorraquídeo, esputo u otro material, según lo indica la ubicación del proceso patológico.

B. Frotis

Las enterobacteriáceas morfológicamente se parecen entre sí. La presencia de cápsulas grandes sugiere *Klebsiella*.

C. Cultivo

Las muestras se siembran sobre placas con agar sangre y medio diferencial. Con este último, casi siempre es posible una identificación preliminar rápida de las bacterias entericas gramnegativas (capítulo 47).

Inmunidad

En las infecciones sistémicas se desarrollan anticuerpos específicos, pero es dudoso que se desarrolle inmunidad significativa a estos microorganismos.

Tratamiento

No se dispone de terapéutica específica única. Sulfonamidas, ampicilinas, cefalosporinas, fluoroquinolonas y aminoglucósidos muestran efectos antibacterianos notables contra los entéricos, pero es grande la variación en la susceptibilidad, y las pruebas de laboratorio para la susceptibilidad a los antibióticos son indispensables. La resistencia a múltiples fármacos es común y está bajo el control de plásmidos transmisibles.

Ciertas condiciones predisponen a la infección por estos microorganismos y requieren corrección quirúrgica: por ejemplo, aliviar la obstrucción de las vías urinarias, cierre de la perforación en un órgano abdominal, o resección de una porción bronquiectásica del pulmón.

El tratamiento de la bacteriemia gramnegativa y del choque séptico inminente requiere instituir lo antes posible la terapéutica antimicrobiana, el restablecimiento del equilibrio hidroelectrolítico y el tratamiento de la coagulación intravascular diseminada. La administración de anticuerpo antiglucopéptido es experimental, pero puede evitar el choque y la muerte.

Se han propuesto varios medios para prevenir la diarrea del viajero, incluso la ingestión diaria de suspensión de subsalicilato de bismuto (el subsalicilato de bismuto puede inactivar *in vitro* las enterotoxinas de la *E. coli*) y dosis regulares de tetraciclinas u otros antimicrobianos durante periodos limitados. Puesto que ninguno de estos métodos tienen éxito total y pueden causar efectos adversos, se recomienda tomar precauciones respecto de los alimentos y bebidas en las regiones donde el saneamiento ambiental es deficiente y que el tratamiento temprano y breve (p. ej., con ciprofloxacina o trimetoprim-sulfametoxazol) se sustituya por profilaxis.

Epidemiología, prevención y control

Las bacterias entéricas se establecen en el intestino normal unos pocos días después del nacimiento y a partir de entonces constituyen la porción principal de la flora microbiana aerobia normal (anaerobios facultativos). La *E. coli* es el prototipo. La presencia de bacilos entéricos en agua o leche se acepta como prueba de contaminación fecal por aguas negras u otras fuentes.

Las medidas de control no son factibles respecto de la flora endógena normal. Los serotipos de la *E. coli* enteropatógena deben controlarse igual que las salmonelas (véase después). Algunos de los entéricos constituyen un problema mayor en las infecciones nosocomiales. Tiene particular importancia reconocer que muchas bacterias entéricas son "oportunistas", que causan enfermedad cuando se introducen en pacientes debilitados. En hospitales u otras instituciones, estas bacterias suelen transmitirse por el personal, por instrumentos o por la medicación parenteral. Su control depende del lavado de manos, asepsia rigurosa, esterilización del equipo, desinfección, restricción de la terapéutica intravenosa y de precauciones estrictas para mantener estéril el aparato urinario (es decir, drenaje cerrado).

SHIGELLAS

El hábitat natural de las shigelas se limita al intestino de los humanos y de otros primates, donde produce disentería bacilar.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las shigelas son bacilos gramnegativos delgados; en cultivos recientes se presentan formas cocobacilares.

B. Cultivo

Las shigelas son anaerobios facultativos, pero crecen mejor en condiciones aeróbicas. Las colonias convexas, circulares y transparentes con bordes nítidos alcanzan un diámetro de aproximadamente 2 mm en 24 h.

C. Características del crecimiento

Todas las shigelas fermentan la glucosa. Con excepción de alguna *Shigella sonnei*, ninguna fermenta lactosa. Esta incapacidad distingue a las shigelas en medio diferencial. Las shigelas forman ácido a partir de carbohidratos, pero pocas veces producen gas. También se les puede clasificar en aquellas que fermentan manitol y las que no lo hacen (cuadro 16-3).

Estructura antigénica

Las shigelas presentan un complejo patrón antigénico. Existe un gran traslape en el comportamiento serológico de las diferentes especies, y la mayor parte de éstas comparten antígenos O con otros bacilos entéricos.

Cuadro 16-3. Especies patógenas de *Shigella*

Designación actual	Grupo y tipo	Manitol	Omitina decarboxilasa
<i>S. dysenteriae</i>	A	-	-
<i>S. flexneri</i>	B	+	-
<i>S. boydii</i>	C	+	-
<i>S. sonnei</i>	D	+	+

Los antígenos somáticos O de las shigelas son lipopolisacáridos. Su especificidad serológica depende del polisacárido. Existen más de 40 serotipos. La clasificación de las shigelas se basa en las características bioquímicas y antigénicas. Las especies patógenas se muestran en el cuadro 16-3.

Patogenia y patología

Las infecciones por shigelas casi siempre se limitan al aparato gastrointestinal: la invasión al torrente sanguíneo es poco frecuente. Las shigelas son muy transmisibles: la dosis infectante es del orden de 10^3 microorganismos (en tanto que para salmonelas y vibrios es de 10^5 a 10^8). El proceso patológico indispensable es la invasión de células epiteliales de la mucosa (p. ej., células M) por fagocitosis inducida, escape de la vacuola fagocítica, multiplicación y propagación dentro del citoplasma de la célula epitelial y el paso a las células adyacentes. Los microabscesos en la pared del intestino grueso y el fleon terminal producen necrosis de la mucosa, úlceras superficiales, sangrado y formación de una "pseudomembrana" sobre la región ulcerada. Ésta consta de fibrina, leucocitos, restos celulares, una mucosa necrosada y bacterias. Cuando el proceso cede, el tejido de granulación llena las úlceras y forma tejido cicatrizal.

Toxinas

A. Endotoxina

Después de la autólisis, todas las shigelas liberan un lipopolisacárido tóxico. Esta endotoxina tal vez contribuya a la irritación de la pared intestinal.

B. Exotoxina de la *Shigella dysenteriae*

La *S. dysenteriae* tipo 1 (bacilo de Shiga) produce una exotoxina termolábil que afecta el intestino y el sistema nervioso central. La exotoxina es una proteína antigénica (estimula la producción de antitoxinas) mortal para los animales de experimentación. Actúa como enterotoxina y produce diarrea, igual que la verotoxina de la *E. coli*, quizá por el mismo mecanismo. En los humanos la exotoxina también inhibe la absorción de azúcar y aminoácidos en el intestino delgado. Actúa como "neurotoxina", y esta sustancia puede contribuir a la gravedad extrema y a la naturaleza mortal de las infecciones por *S. dysenteriae*, así como a las reacciones del sistema nervioso central observadas en ellas (esto es, meningismo, coma). Los pacientes con infecciones causadas por *Shigella flexneri* o *Shigella sonnei* desarrollan antitoxina que neutraliza *in vitro* la exotoxina de la *S. dysenteriae*. En la disentería, la actividad tóxica es distinta de la propiedad invasora de las shigelas. Las dos pueden actuar en secuencia: la toxina produce diarrea inicial abundante, no sanguinolenta, y la invasión del intestino grueso produce después disentería con sangre y pus en las heces.

Datos clínicos

Después de un breve periodo de incubación (1 a 2 días) hay dolor abdominal, fiebre y diarrea acuosa de inicio súbito.

La diarrea
intestino o
madamen
la infección
con frecue
se acompa
resultante
la mitad d
espontáne
la pérdida
dratación.
sada por la
Durante
expulsa ba
unos cuan
den presen
pués de la
personas d
éstos no pr

Pruebas

A. Muestras

Heces frescas
vos. En el
observar gr
demostrar
nantes debe
10 días.

B. Cultivos

Los materia
p. ej., de M
fagar entéri
suprimen ot
positivos. L
lan en agar
productores
do, y dan u
medio agar
deben ser o
con anuser

C. Serología

Con frecuen
contra varia
nación seria
aumento de
infecciones

Inmunidad

La infección
específicos
mula la pro
protege al se
lgA pueden
éstos puede
administrad

La diarrea se atribuye a la acción de una exotoxina en el intestino delgado (véase antes). Después de un día, aproximadamente, el número de evacuaciones aumenta conforme la infección afecta íleon y colon: son menos líquidas, pero con frecuencia contienen moco y sangre. Cada evacuación se acompaña de pujo y tenesmo (espasmo rectal), con el resultante dolor abdominal inferior. En adultos, en más de la mitad de los casos la fiebre y la diarrea ceden de manera espontánea en 2 a 5 días. Sin embargo, en niños y ancianos, la pérdida de agua y de electrolitos pueden producir deshidratación, acidosis e incluso la muerte. La enfermedad causada por la *S. dysenteriae* puede ser particularmente grave.

Durante la recuperación, la mayoría de las personas expulsa bacilos disentericos durante un periodo breve, pero unos cuantos se convierten en portadores crónicos y pueden presentar brotes recidivantes de la enfermedad. Después de la recuperación de la infección, la mayoría de las personas desarrolla anticuerpos circulantes a shigela, pero éstos no protegen contra una reinfección.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Heces frescas, mechones de moco y frotis rectal para cultivos. En el examen microscópico de las heces es frecuente observar gran número de leucocitos y eritrocitos. Si se desea demostrar el aumento en el título de los anticuerpos aglutinantes deben recolectarse muestras de suero a intervalos de 10 días.

B. Cultivo

Los materiales se siembran en estrías sobre diferentes medios (p. ej., de MacConkey o agar EMB) y sobre medios selectivos (agar entérico Hektoen o agar shigela-salmonela), los cuales suprimen otras enterobacteriáceas y microorganismos grampositivos. Las colonias incoloras (lactosa negativas) se inoculan en agar hierro triple azúcar. Los microorganismos no productores de H_2S que producen ácido pero no gas en el fondo, y dan un cambio alcalino en la porción inclinada en el medio agar hierro triple azúcar, y que carecen de motilidad, deben ser objeto de aglutinación en una laminilla de vidrio con antisuero específico de shigela.

C. Serología

Con frecuencia las personas normales presentan aglutininas contra varias especies de *Shigella*. Sin embargo, la determinación seriada de los títulos de anticuerpos a veces revela el aumento de anticuerpos específicos. Para el diagnóstico de infecciones por shigela no se emplea la serología.

Inmunidad

La infección va seguida de una respuesta de anticuerpos específicos de tipo. La inyección de shigelas muertas estimula la producción de anticuerpos en el suero, pero no protege al ser humano contra la infección. Los anticuerpos IgA pueden ser importantes para limitar la reinfección; éstos pueden ser estimulados por cepas vivas atenuadas administradas por vía oral como vacunas experimentales.

Los anticuerpos séricos a los antígenos somáticos de las shigelas son IgM.

Tratamiento

La ciprofloxacina, la ampicilina, la tetraciclina, el trimetoprim-sulfametoxazol y cloramfenicol son comúnmente inhibidores para las shigelas aisladas y pueden suprimir los ataques clínicos agudos de disentería y acortar la duración de los síntomas. A veces fracasan para erradicar el microorganismo del intestino. La resistencia a múltiples fármacos puede transmitirse por plásmidos, y las infecciones resistentes se propagan muy ampliamente. Muchos casos son autolimitados. En la disentería por shigelas hay que evitar los opioides.

Epidemiología, prevención y control

Las shigelas se transmiten a través de "alimentos, dedos, heces y moscas" de una persona a otra. La mayor parte de los casos de infección por *Shigella* ocurre en niños menores de 10 años de edad. La *S. dysenteriae* puede propagarse extensamente. Se ha intentado la quimiopprofilaxia masiva durante periodos limitados (p. ej., en el personal militar), pero las cepas resistentes de shigela tienden a surgir con rapidez. Puesto que los humanos son el principal huésped identificado de las shigelas patógenas, los esfuerzos de control deben dirigirse a eliminar los microorganismos de este reservorio mediante 1) control sanitario del agua, alimentos y leche; disposición de la basura y control de las moscas; 2) aislamiento de pacientes y desinfección de las excretas; 3) detección de casos subclínicos y portadores, en particular entre los manejadores de alimentos, y 4) tratamiento antibiótico de individuos infectados.

GRUPO SALMONELLA-ARIZONA

Con frecuencia, las salmonelas son patógenas para humanos o animales cuando se adquieren por vía oral. Se transmiten a los humanos a partir de animales y productos de éstos, y causan enteritis, infección sistémica y fiebre entérica.

Morfología e identificación

Las salmonelas varían en longitud. La mayor parte de los aislados están dotados de motilidad mediante flagelos peritricos. Las salmonelas crecen rápidamente sobre medios simples, pero casi nunca fermentan lactosa o sacarosa. Forman ácido y a veces gas a partir de glucosa y manosa. Generalmente producen H_2S . Sobreviven en agua congelada durante periodos prolongados. Las salmonelas son resistentes a ciertas sustancias químicas (p. ej., verde brillante, tetratiónato de sodio, desoxicolato sódico) que inhiben otras bacterias entéricas; por tanto, es útil incluir estos compuestos en los medios de cultivo para aislar salmonelas de las heces.

Cuadro 16-5. Enfermedad clínica inducida por salmonelas

	Fiebres entéricas	Septicemias	Enterocolitis
Periodo de incubación	7 a 20 días	Variable	8 a 48 h
Inicio	Insidioso	Súbito	Súbito
Fiebre	Gradual, después una meseta elevada, con estado "tifoide"	Elevación rápida, después temperatura "séptica" en picos	Generalmente baja
Duración de la enfermedad	Varias semanas	Variable	2 a 5 días
Síntomas gastrointestinales	Con frecuencia estreñimiento inicial; después diarrea sanguinolenta	Con frecuencia ninguno	Náuseas, vómito, diarrea al inicio
Hemocultivo	Positivo en la primera a segunda semanas de la enfermedad	Positivo durante fiebre elevada	Negativo
Coprocultivo	Positivo a partir de la segunda semana; negativo al principio de la enfermedad	Positivo con poca frecuencia	Positivo poco después del inicio

dad, de 10 a 15%. El tratamiento con antibióticos redujo la tasa de mortalidad a menos de 1%.

Las principales lesiones son hiperplasia y necrosis del tejido linfóide (p. ej., placas de Peyer), hepatitis, necrosis focal del hígado e inflamación de la vesícula biliar, peritio, pulmones y otros órganos.

B. Bacteriemia con lesiones focales

Esta se asocia por lo común, con *S. choleraesuis*, pero puede ser causada por cualquier otro serotipo de salmonela. Posterior a la infección bucal, hay una invasión temprana de la circulación (con posibles lesiones focales en pulmones, huesos, meninges, etc.), pero las manifestaciones intestinales están, a menudo, ausentes. Los hemocultivos son positivos.

C. Enterocolitis

Esta es la manifestación más común de infección por salmonela. En EUA, *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Enteritidis son de los microorganismos causales más sobresalientes, aunque la enterocolitis también puede ser causada por cualesquiera de los más de 1 400 serotipos de salmonela del grupo I. En 8 a 48 h después de la ingestión de las salmonelas aparecen náuseas, cefalea, vómitos y diarrea profusa, con pocos leucocitos en las heces; es común la fiebre de poca intensidad, pero por lo general los síntomas desaparecen en 2 a 3 días.

Se observan lesiones inflamatorias en los intestinos grueso y delgado. La bacteriemia es rara (2 a 4%) excepto en personas inmunodebilitadas. En general, el hemocultivo es negativo, pero los cultivos de heces son positivos para salmonelas y a veces permanecen positivos durante varias semanas después de la recuperación clínica.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Se deben recolectar muestras repetidas de sangre para cultivo. En la fiebre entérica y la septicemia los hemocultivos

casi siempre son positivos en la primera semana de la enfermedad. Se puede practicar cultivo de médula ósea. Los urocultivos a veces son positivos en la siguiente semana.

También se deben recolectar muestras repetidas de heces. En las fiebres entéricas las heces producen resultados positivos desde la segunda o tercera semana; en la enterocolitis, durante la primera semana.

Un cultivo positivo de líquido drenado por el duodeno establece la presencia de salmonelas en el conducto biliar de los portadores.

B. Métodos bacteriológicos para aislamiento de salmonela

1. **Medios de cultivo diferencial:** los medios EMB, de MacConkey o de desoxicolato permiten detectar con rapidez los microorganismos no fermentadores de lactosa (no sólo salmonela y shigela, sino también proteus, serratia, pseudomonas, etc.). Los microorganismos grampositivos presentan cierta inhibición. El medio con sulfuro de bismuto permite la detección rápida de las salmonelas, las cuales forman colonias de color negro debido a la producción de H_2S . Muchas salmonelas producen H_2S .
2. **Medios selectivos de cultivo:** la muestra se coloca sobre agar salmonela-shigela (SS), agar entérico Hektoen, XLD, o agar de desoxicolato-citrato, las cuales favorecen el crecimiento de salmonelas y shigelas más que el de otras enterobacteriáceas.
3. **Cultivos enriquecidos:** las muestras (generalmente heces) también se colocan en caldo selenito F o tetratiónato, ambos inhiben la replicación global de las bacterias intestinales y permiten la multiplicación de las salmonelas. Después de la incubación por 1 o 2 días, se colocan sobre placas con medios diferenciales y selectivos.
4. **Identificación final:** las colonias bajo sospecha en los medios sólidos se identifican mediante patrones de reacción bioquímica (cuadro 16-1) y pruebas de aglutinación en laminilla con suero específico.

C. Métodos serológicos

Las técnicas serológicas se emplean para identificar cultivos desconocidos con sueros conocidos (véase después) y también se pueden utilizar para determinar títulos de anticuerpos en pacientes con enfermedad desconocida, aunque esto último no es muy útil en el diagnóstico de las infecciones por salmonella.

1. **Prueba de aglutinación:** en esta prueba se mezclan sobre una laminilla un suero conocido y un cultivo desconocido. La aglutinación, cuando ocurre, se puede observar en pocos minutos. Esta prueba es particularmente útil para la identificación preliminar rápida de los cultivos. Existen estuches comerciales disponibles para aglutinar y tipificar por serogrupos a las especies salmonella mediante sus antígenos O: A, B, C, D y E.
2. **Prueba de aglutinación por dilución en un tubo (prueba de Widal):** las aglutininas del suero aumentan bruscamente durante la segunda y tercera semanas de la infección por *Salmonella*. Se requieren al menos dos muestras de suero obtenidas a intervalos de 7 a 10 días para demostrar un aumento en el título de anticuerpos. Las diluciones seriadas (dobles) del suero desconocido se someten a prueba contra antígenos de salmonelas representativas. Los resultados se interpretan de la manera siguiente: 1) Los títulos grandes o en aumento de O ($\geq 1:160$) sugieren que hay infección activa. 2) Los títulos grandes de H ($\geq 1:160$) sugieren inmunización pasada o infección en el pasado. 3) El título grande de anticuerpos al antígeno Vi se presenta en algunos portadores. Los resultados de las pruebas serológicas para infección por *Salmonella* deben interpretarse cautelosamente. La posible presencia de anticuerpos con reacción cruzada limitan el empleo de la serología en el diagnóstico de la infección por salmonella.

Inmunidad

Las infecciones con *Salmonella typhi*, o *Salmonella paratyphi* generalmente confieren un cierto grado de inmunidad. Puede ocurrir reinfección, pero con frecuencia es más leve que la primera infección. Los anticuerpos circulantes a O y Vi se relacionan con resistencia a la infección y a la enfermedad. Sin embargo, pueden ocurrir recaídas en 2 a 3 semanas después de la recuperación a pesar de los anticuerpos. Los anticuerpos secretorios IgA a veces evitan la adhesión de las salmonelas al epitelio intestinal.

Las personas con hemoglobina S/S (enfermedad de células falciformes o drepanocítica) son muy susceptibles a las infecciones por salmonella, en particular osteomielitis. Las personas con hemoglobina A/S (rasgo drepanocítico) pueden ser más susceptibles que las personas normales (aquellas con hemoglobina A/A).

Tratamiento

Aunque las fiebres entéricas y las bacteriemias por lesión focal requieren tratamiento antimicrobiano, la mayor parte de los casos de enterocolitis no lo necesitan. El tratamiento antimicrobiano de la enteritis por salmonelas es importante

en los neonatos. En la enterocolitis, la terapéutica antimicrobiana puede prolongar los síntomas clínicos y la excreción de las salmonelas. En la diarrea intensa es indispensable la reposición de líquidos y electrolitos.

La terapéutica antimicrobiana de la infección invasora por salmonella se lleva a cabo con ampicilina, trimetoprim-sulfametoxazol, o una cefalosporina de tercera generación. La resistencia a múltiples fármacos transmitida genéticamente por plásmidos entre las bacterias entéricas es un problema en las infecciones por salmonella. Las pruebas de susceptibilidad constituyen un coadyuvante importante para seleccionar el antibiótico apropiado.

En la mayoría de los portadores, el microorganismo persiste en la vesícula biliar (particularmente si hay cálculos biliares) y en las vías biliares. Algunos portadores crónicos sólo se curan con ampicilina, pero en la mayor parte de los casos se debe combinar la colecistectomía con el tratamiento farmacológico.

Epidemiología

Las heces de las personas con enfermedad subclínica no sospechada o de los portadores constituyen la fuente más importante de contaminación y no los casos clínicos declarados que se aíslan con prontitud; por ejemplo, cuando los portadores trabajan en el manejo de alimentos y "expulsan" microorganismos. Muchos animales, entre ellos ganado bovino, roedores y aves, presentan infección natural con varios tipos de salmonelas y poseen bacterias en sus tejidos (carne), excreta o huevos. Se ha dado mucha publicidad a la elevada incidencia de salmonelas en los pollos disponibles en el comercio. En EUA ha disminuido la incidencia de fiebre tifoidea, pero la incidencia de otras infecciones por salmonelas aumentó notablemente. El problema tal vez se agrava por el amplio uso de alimento de animales que contienen antimicrobianos, lo cual favorece la proliferación de salmonelas resistentes a los fármacos y su posible transmisión al ser humano.

A. Portadores

Después de las infecciones manifiesta o subclínica, algunas personas continúan albergando salmonelas en sus tejidos durante un tiempo variable (portadores convalescentes o portadores permanentes sanos). Un 3% de los supervivientes de tifoidea se convierten en portadores permanentes y albergan los microorganismos en vesícula biliar, vías biliares, o pocas veces, en el intestino o el aparato urinario.

B. Fuentes de infección

Las fuentes de infección son alimentos y bebidas contaminadas con salmonelas. Las siguientes fuentes son importantes:

1. **Agua.** La contaminación con heces frecuentemente produce epidemias explosivas.
2. **Leche y otros productos lácteos (helado, queso, natillas).** Contaminación con heces y pasteurización o manejo inapropiados. Algunos brotes pueden seguirse hasta la fuente de suministro.
3. **Mariscos.** Procedentes de aguas contaminadas.
4. **Huevos secos o congelados.** De aves infectadas o contaminadas durante su procesamiento.

5. Carnes y productos cárnicos. De animales infectados (aves) o contaminación con heces por roedores o humanos.
6. Drogas "recreativas". Marihuana y otras drogas.
7. Colorantes de animales. Colorantes (p. ej., carmín) empleados en fármacos, alimentos y cosméticos.
8. Mascotas domésticas. Tortugas, perros, gatos, etc.

Prevención y control

Deben adoptarse medidas sanitarias para prevenir la contaminación de alimentos y agua por roedores y otros animales que excretan salmonela. Es necesario que la carne de aves, de bovino y huevos infectados se cocinen con cuidado. No se debe permitir que los portadores trabajen como manejadores de alimentos; también es importante observar estrictas precauciones higiénicas.

Dos inyecciones de suspensión de bacterias muertas por acetona de *Salmonella* Typhi seguidas por una inyección de refuerzo meses más tarde confieren resistencia parcial a los inóculos infectantes pequeños de bacilo tífico, pero no a los inóculos grandes. La administración por vía oral de una cepa mutante viva avirulenta de *Salmonella* Typhi ha suministrado protección significativa en regiones de endemicidad elevada. Las vacunas contra otras salmonelas confieren menos protección y no se recomiendan.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una estudiante universitaria de 20 años de edad acude al centro de salud escolar como resultado de disuria, frecuencia y urgencia para orinar durante las 24 h. Tiene poco tiempo de haber comenzado una vida sexual activa. En el análisis de orina, se observan muchas células polimorfonucleares. El organismo con más probabilidad de ser el causante de estos síntomas y signos es
 - A. *Staphylococcus aureus*
 - B. *Streptococcus agalactiae*
 - C. *Gardnerella vaginalis*
 - D. Especies de *Lactobacillus*
 - E. *Escherichia coli*
2. Una mujer de 27 años de edad es admitida al hospital debido a fiebre, con anorexia creciente, cefalea, debilidad y estado mental alterado de dos días de duración. La paciente trabaja para una aerolínea como asistente de cabina, volando entre el subcontinente indio y otros países del sur de Asia y la costa oriental de EUA. Diez días antes de ser admitida al hospital tuvo una enfermedad diarreica que duró por lo menos unas 36 h. La paciente ha estado estroñada durante los últimos tres días. Su temperatura es de 39 °C, frecuencia cardíaca 68/min, tensión arterial 120/80 mm Hg y 18 respiraciones por minuto. La paciente sabe quién es y dónde está pero no sabe la fecha. Ha estado jalando las sábanas de la cama con las puntas de los dedos. En el torso se observan puntos rosas. El resto del examen físico es normal. Se llevan a cabo cultivos de sangre y se coloca una línea intravenosa. La causa más probable de su enfermedad es
 - A. *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET)
 - B. *Shigella sonnei*
 - C. Subespecie enterica de *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium (*Salmonella typhimurium*)
 - D. Subespecie enterica de *Salmonella enterica* serotipo Typhi (*Salmonella typhi*)
 - E. *Shigella flexneri*
3. Los cultivos de sangre de la paciente de la pregunta 2 produjeron un bacilo gramnegativo que no fermenta en lactosa. ¿Cuál de los siguientes es probable que sea un constituyente de este organismo?
 - A. Antígeno O 157, antígeno H 7 (O157:H7)
 - B. Antígeno Vi (cápsula; antígeno de virulencia)
 - C. Antígeno O 139 (O139)
 - D. Ureasa
 - E. K1 (tipo 1 capsular)
4. Cuatro miembros de una familia de trabajadores agrícolas emigrantes, madre, padre y dos niños jóvenes, llegan a la sala de urgencias como resultado de diarrea y fiebre de 6 a 12 h de duración. Sus heces han sido frecuentes y con manchas de sangre. Otras personas del grupo de trabajadores han padecido una enfermedad diarreica similar. Entre los enfermos está la persona que preparó la cena del día anterior. El examen físico de los padres es normal. Los niños muestran signos de pérdida excesiva de líquido y electrolitos. La causa probable de este brote es
 - A. Subespecie enterica de *Salmonella enterica* serotipo Typhimurium (*Salmonella typhimurium*)
 - B. Subespecie enterica de *Salmonella enterica* serotipo Typhi (*Salmonella typhi*)
 - C. *Shigella flexneri*
 - D. Rotavirus
 - E. *Escherichia coli* enterotoxigénica (ECET)
5. En la Europa medieval, era común guardar el pan en los sótanos húmedos de las iglesias antes de usarlo en las ceremonias. A veces aparecía una sustancia roja en el pan. Las bacterias de color rojo que estaban sobre el pan eran:
 - A. *Serratia marcescens*
 - B. *Pseudomonas aeruginosa*
 - C. *Escherichia coli*
 - D. *Klebsiella pneumoniae*
 - E. *Proteus mirabilis*
6. Una mujer de 37 años de edad con una historia de infecciones de vías urinarias llega a la sala de urgencias con ardor al orinar aunado a frecuencia y urgencia. La paciente dice que su orina huele a amoníaco. Es probable que la causa de su infección de vías urinarias sea
 - A. *Enterobacter aerogenes*
 - B. *Proteus mirabilis*
 - C. *Citrobacter freundii*
 - D. *Escherichia coli*
 - E. *Serratia marcescens*
7. Un hombre de 60 años de edad fue admitido al hospital dos semanas antes debido a traumatismo de la cabeza y otras lesiones que resultaron de un accidente automovilístico. Al admitir al paciente se le insertó un catéter y permanece en su lugar. Presentó una infección de vías urinarias con un bacilo gramnegativo. La causa probable de la infección de este paciente es:
 - A. *Pseudomonas aeruginosa*
 - B. *Providencia rettgeri*
 - C. *Escherichia coli*
 - D. *Morganella morganii*
 - E. Indeterminable sin cultivo y prueba de identificación
8. Un estudiante de 18 años de edad tiene calambres abdominales y diarrea. Se inocula una placa de agar de

MacConkey y se desarrollan bastoncillos gramnegativos. Se usó agar hierro triple azúcar (TSI) para seleccionar los aislados con respecto a *Salmonellae* y *Shigellae*. Un resultado que hace pensar en uno de estos dos patógenos sería:

- A. Producción de ureasa
 - B. Motilidad en el medio
 - C. Incapacidad para fermentar lactosa y sucrosa
 - D. Fermentación de glucosa
 - E. Producción de gas en el medio
9. Los laboratorios de salud de estados circunvecinos encontraron un serotipo poco común de subespecies *enterica* de *Salmonella enterica*. Los aislados fueron de una pequeña área geográfica en cualquier lado de la frontera entre los estados, lo cual hace pensar en una fuente común para los aislados. (En su juventud los aislados fueron muchachos saludables que fumaban marihuana; la misma *salmonella* se aisló de una muestra de marihuana.) ¿Por qué método los laboratorios determinaron que estos aislados eran iguales?

- A. Tipificación capsular (antígeno K)
- B. Tipificación de antígeno O y antígeno H
- C. Secuenciación de DNA
- D. Determinación del patrón de fermentación de azúcar
- E. Determinación del patrón de reacción de la descarboxilasa

10. Un hombre de 43 años de edad con diabetes tiene una úlcera incurable en el pie. El cultivo de la úlcera produce *Staphylococcus aureus*, *Bacteroides fragilis* y un bacilo gramnegativo que abunda en la placa de agar sangre que cubre toda la superficie del agar después de 36 h. El bacilo gramnegativo es un miembro del género:

- A. *Escherichia*
- B. *Enterobacter*
- C. *Serratia*
- D. *Salmonella*
- E. *Proteus*

Respuestas: 1 = E; 2 = D; 3 = B; 4 = C; 5 = A; 6 = B; 7 = E; 8 = C; 9 = B; 10 = E;

REFERENCIAS

- Abbott S: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Plesiomonas*, and Other *Enterobacteriaceae*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors.) ASM Press, 2003.
- Bopp CA et al.: *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors.) ASM Press, 2003.
- Dupont HL: *Shigella* species (bacillary dysentery). In: Mandell, Douglas, and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Eisenstein BI, Azaleznik DF: *Enterobacteriaceae*. In: Mandell, Douglas, and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Farmer JJ III: *Enterobacteriaceae*. Introduction and identification. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Miller SI, Pegues DA: *Salmonella* species, including *Salmonella typhi*. In: Mandell, Douglas, and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.

Pseudomonas, acinetobacter y bacterias gramnegativas poco comunes

Las pseudomonas y las acinetobacter se distribuyen ampliamente en suelo y agua. La *Pseudomonas aeruginosa* a veces coloniza al humano y es el principal patógeno humano del grupo. La *P. aeruginosa* es invasora y toxigénica, produce infecciones en pacientes con defensas deficientes y es un patógeno nosocomial importante.

En este capítulo también se incluyen las bacterias gramnegativas que pocas veces causan enfermedad en humanos. Algunas de ellas (p. ej., cromobacterias y criseobacterias) sólo se encuentran en el suelo o en el agua y son patógenos oportunistas para los humanos. Otras bacterias gramnegativas (p. ej., especies de capnocytophaga, *Eikenella corrodens*, y especies de *kingella* y de *moraxella*) son parte de la flora normal del humano y se presentan en gran variedad de infecciones; con frecuencia son causa inesperada de enfermedad.

GRUPO PSEUDOMONAS

Las pseudomonas son bacilos gramnegativos, dotados de motilidad y aerobios, algunos de los cuales producen pigmentos hidrosolubles. Se distribuyen ampliamente en suelo, agua, plantas y animales. La *Pseudomonas aeruginosa* con frecuencia se observa en escaso número en la flora intestinal normal y sobre la piel de los humanos, es el principal patógeno del grupo. Otras pseudomonas causan enfermedad con poca frecuencia. La clasificación de las pseudomonas se basa en la homología del rRNA/DNA y en características comunes de cultivo. Las de importancia médica se presentan en el cuadro 17-1.

1. PSEUDOMONAS AERUGINOSA

La *P. aeruginosa* se distribuye extensamente en la naturaleza y es común en ambientes húmedos de los hospitales. Puede colonizar a los humanos normales, en quienes es un saprofito. Causa enfermedad en huéspedes humanos con defensas anormales.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

P. aeruginosa es un bacilo dotado de motilidad que mide casi $0.6 \times 2 \mu\text{m}$. Es gramnegativo y se le encuentra como bacteria única, en pares y ocasionalmente en cadenas cortas.

B. Cultivo

P. aeruginosa es aerobio obligado que crece fácilmente sobre muchos tipos de medio de cultivo, a veces produce un olor dulzón semejante a jugo de uva o de maíz. Algunas cepas causan hemólisis. La *P. aeruginosa* forma colonias redondas y lisas de color verde fluorescente. Con frecuencia

Cuadro 17-1. Clasificación de algunas *Pseudomonas* de importancia médica*

Homología rRNA de grupo y subgrupo	Género y especie
I Grupo fluorescente	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Pseudomonas putida</i>
Grupo no fluorescente	<i>Pseudomonas stutzeri</i> <i>Pseudomonas mendocina</i>
II	<i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Burkholderia mallei</i> <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Ralstonia picketti</i>
III	Especies de comamonas Especies de acidovorax
IV	Especies de brevundimonas
V	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

* Muchas otras especies son ocasionalmente observadas en especímenes clínicos o ambientales.

produce un pigmento azulado no fluorescente, **piocianina**, que difunde en agar. Otras especies de pseudomonas no producen piocianina. Muchas cepas de *P. aeruginosa* también producen el pigmento fluorescente **pioverdina** que confiere color verdoso al agar. Algunas cepas producen pigmento rojo oscuro **piorrubina** o el pigmento negro **piomelanina**.

P. aeruginosa en cultivo puede producir múltiples tipos de colonias. La *P. aeruginosa* de colonias de diferente tipo también puede presentar actividades enzimática y bioquímica diferentes y distintos patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos. A veces no queda claro si los tipos de colonias representan diferentes cepas de *P. aeruginosa* o son variantes de la misma cepa. Los cultivos del material recolectado de pacientes con fibrosis quística casi siempre producen microorganismos *P. aeruginosa* que forman colonias mucoides como consecuencia de la producción excesiva de alginato y exopolisacárido. Al parecer en pacientes con fibrosis quística, el exopolisacárido provee la matriz para que los organismos vivan en una biocapa (véase el capítulo 9).

C. Características del crecimiento

La *P. aeruginosa* crece bien de 37 a 42 °C; su crecimiento a 42 °C ayuda a diferenciarla de otras especies de pseudomonas en el grupo fluorescente. Es **oxidasa-positiva**. No fermenta los carbohidratos, pero muchas cepas oxidan la glucosa. La identificación casi siempre se basa en la morfología de las colonias, positividad a oxidasa, presencia de pigmentos característicos y crecimiento a 42 °C. La diferenciación entre la *P. aeruginosa* y otras pseudomonas con base en su actividad bioquímica requiere pruebas con una gran diversidad de sustratos.

Estructura antigénica y toxinas

Los **pili** (fimbrias) se extienden desde la superficie de la célula y promueven la adhesión sobre las células huéspedes epiteliales. El exopolisacárido es el causante de que se observen colonias mucoides en cultivos de pacientes con fibrosis quística. El lipopolisacárido, que se presenta en múltiples inmunotipos, causa muchas de las propiedades endotóxicas del organismo. La *P. aeruginosa* puede tipificarse por el inmunotipo del lipopolisacárido y por la susceptibilidad a la piocina (bacteriocina). La mayor parte de la *P. aeruginosa* aislada de infecciones clínicas produce enzimas extracelulares, las cuales incluyen elastasas, proteasas y dos hemolisinas: una fosfolipasa C termolábil y un glucolípido termoestable.

Muchas cepas de *P. aeruginosa* producen exotoxina A, la cual produce necrosis tisular y es mortal para los animales cuando se inyecta purificada. La toxina impide la síntesis de las proteínas mediante un mecanismo de acción idéntico al de la toxina diftérica, aunque la estructura de las dos toxinas no es idéntica. En algunos humanos se encuentran antitoxinas a la exotoxina A, incluso en pacientes recuperados de infecciones graves por *P. aeruginosa*.

Patogenia

P. aeruginosa sólo es patógena cuando se introduce en regiones desprovistas de defensas normales, por ejemplo,

mucosas y piel lesionadas por daño tisular directo; empleo de catéteres intravenoso o urinario; o cuando hay neutropenia, como en la quimioterapia contra el cáncer. Las bacterias se unen a las mucosas o a la piel y las colonizan, invaden localmente y producen enfermedad sistémica. Estos procesos se favorecen por **pili**, enzimas y toxinas, descritas antes. El lipopolisacárido desempeña una función directa en la génesis de la fiebre, choque, oliguria, leucocitosis y leucopenia, coagulación intravascular diseminada y síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto.

La *P. aeruginosa* y otras pseudomonas son resistentes a muchos agentes antimicrobianos y, por tanto, se convierten en dominantes e importantes cuando se suprimen las bacterias más susceptibles de la flora normal.

Datos clínicos

La *P. aeruginosa* produce infección en heridas y quemaduras, formando pus color azul verdoso; cuando se introduce por punción lumbar causa meningitis, e infección del aparato urinario cuando la vía de entrada son catéteres, instrumentos o soluciones irrigantes. La afección del aparato respiratorio, en especial por aparatos respiradores contaminados, produce neumonía necrosante. Esta bacteria se observa con frecuencia en la otitis externa leve de los nadadores. En pacientes diabéticos puede causar otitis externa invasora (maligna). La infección del ojo, que puede conducir a una destrucción rápida de ese órgano, ocurre con mayor frecuencia después de procedimientos o lesiones quirúrgicas. En lactantes o personas debilitadas, la *P. aeruginosa* puede invadir el torrente sanguíneo y causar septicemia mortal; esto se observa con mayor frecuencia en pacientes con leucemia o linfoma a quienes se administran antineoplásicos o radioterapia, y en pacientes con quemaduras graves. En la mayor parte de las infecciones por *P. aeruginosa* los síntomas y signos son inespecíficos y se relacionan con el órgano afectado. En ocasiones se puede detectar verdoglobina (producto del desdoblamiento de la hemoglobina) o un pigmento fluorescente en las heridas, o en la orina, mediante fluorescencia ultravioleta. En la septicemia causada por *P. aeruginosa* casi siempre hay necrosis hemorrágica de la piel; la lesión, denominada **ectima gangrenoso**, está rodeada por eritema y con frecuencia no contiene pus. En las muestras de las lesiones del ectima teñidas con tinción de Gram se puede observar *P. aeruginosa* y los cultivos son positivos. El ectima gangrenoso es poco común en la bacteriemia debida a microorganismos diferentes de *P. aeruginosa*.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Deben recolectarse muestras de lesiones cutáneas, pus, orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, esputo y otros materiales, según lo indique el tipo de infección.

B. Frotis

Con frecuencia, en los frotis se observan bacilos gramnegativos. No existen características morfológicas específicas

para diferenciar pseudomonas de los bacilos entéricos y de otros bacilos gramnegativos en las muestras.

C. Cultivo

Las muestras se colocan sobre agar sangre y en los medios diferenciales que comúnmente se emplean para crecer los bacilos entéricos gramnegativos. Las pseudomonas crecen con facilidad en la mayor parte de estos medios, pero a veces crecen más lentamente que los entéricos. La *P. aeruginosa* no fermenta la lactosa y es fácil de diferenciar de las bacterias que sí la fermentan. El cultivo es la prueba específica para el diagnóstico de la infección por *P. aeruginosa*.

Tratamiento

Las infecciones clínicamente significativas con *P. aeruginosa* no deben tratarse a base de un solo fármaco porque la probabilidad de éxito es baja con este tipo de terapéutica y la bacteria puede desarrollar resistencia con rapidez. Se emplea una penicilina activa contra *P. aeruginosa*—ticarcilina, o piperacilina— en combinación con un aminoglucósido, generalmente tobramicina. Otros fármacos activos contra la *P. aeruginosa* incluyen aztreonam, imipenem y las quinolonas más recientes, incluso la ciprofloxacina. Entre las cefalosporinas más recientes, la ceftazidima y la cefepazona son activas contra la *P. aeruginosa*; la primera se emplea en la terapéutica primaria de las infecciones por *P. aeruginosa*. Los patrones de susceptibilidad de la *P. aeruginosa* varían según la región geográfica y deben emplearse pruebas de susceptibilidad para ayudar a seleccionar la terapéutica antimicrobiana.

Epidemiología y control

La *P. aeruginosa* es principalmente un patógeno nosocomial y los métodos para controlar la infección son similares a los de otros patógenos nosocomiales. Puesto que las pseudomonas proliferan en ambientes húmedos, debe prestarse especial atención a vertederos, tinas de baño, regaderas, tuberías de agua caliente y otras áreas húmedas. Con fines epidemiológicos, las cepas pueden tipificarse mediante pirocinas y por inmunotipos lipopolisacáridos. A los pacientes de alto riesgo se les puede conferir cierta protección contra la septicemia por pseudomonas mediante la administración de una vacuna del tipo apropiado. Este tratamiento se emplea experimentalmente en pacientes con leucemia, quemaduras, fibrosis quística e inmunosupresión.

2. BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI

B. pseudomallei es un bacilo gramnegativo aerobio, pequeño y dotado de motilidad. Crece en medios bacteriológicos estándar, forma colonias que varían desde mucoides y lisas hasta gruesas y arrugadas y de color crema a naranja. Crece a 42 °C, oxida glucosa, lactosa y varios otros carbohidratos. La *B. pseudomallei* causa melioidosis, una enfermedad de humanos, principalmente en el sureste de Asia y el norte de Australia. El microorganismo es un sapro-

fito natural que se ha cultivado del suelo, agua dulce, plantíos de arroz y de productos vegetales. La infección humana probablemente se origina por la contaminación de excoiraciones en la piel a partir de estas fuentes, y tal vez por ingestión o inhalación. La infección epizootica por *B. pseudomallei* afecta ovejas, cabras, cerdos, caballos y otros animales, aunque los animales no parecen ser un reservorio primario para el microorganismo.

La melioidosis puede manifestarse como una infección aguda, subaguda o crónica. El periodo de incubación puede ser muy breve, 2 a 3 días, pero también se han observado periodos de latencia de meses a años. En el sitio de inoculación, donde existe una solución de continuidad en la piel, puede aparecer infección supurante localizada. Esta infección localizada a veces conduce a la variedad septicémica aguda de la infección con afección de muchos órganos. Los signos y síntomas dependen de los principales sitios afectados. La variedad más común de melioidosis es la infección pulmonar, que puede ser una neumonitis primaria (*B. pseudomallei* transmitida a través de las vías respiratorias superiores o la nasofaringe) o subsecuente a infección supurante localizada y bacteriemia. A veces, el paciente presenta fiebre y leucocitosis, con consolidación de los lóbulos superiores. Después, el paciente puede permanecer afebril en tanto se desarrollan cavidades en el lóbulo superior, el cual adopta un aspecto similar al de tuberculosis en las radiografías de tórax. Algunos pacientes desarrollan infección supurativa crónica con abscesos en la piel, cerebro, pulmón, miocardio, hígado, hueso y otros sitios. Los pacientes con infección supurativa crónica pueden estar afebriles y presentar enfermedad inactiva. Una infección latente puede reactivarse como consecuencia de inmunosupresión.

Debe considerarse el diagnóstico de melioidosis en un paciente procedente de una región endémica con enfermedad sistémica fulminante o inexplicable del lóbulo pulmonar superior. La tinción de Gram de una muestra apropiada expone pequeños bacilos gramnegativos; con el colorante de Wright o con azul de metileno se observa una tinción bipolar (aspecto de alfiler de seguridad). El cultivo positivo es diagnóstico. Una prueba serológica positiva es útil desde el punto de vista diagnóstico y es evidencia de infección previa.

Sin tratamiento, la tasa de mortalidad por melioidosis es elevada. A veces es necesario drenar quirúrgicamente la infección localizada. Las pruebas de susceptibilidad a los antibióticos constituyen una guía importante para el tratamiento. Generalmente, la *B. pseudomallei* es susceptible a varios antibióticos, los cuales incluyen tetraciclina, sulfonamidas, trimetoprim-sulfametoxazol, cloranfenicol, amoxicilina o ticarcilina con ácido clavulánico, piperacilina, imipenem y cefalosporinas de tercera generación. Los pacientes con infección grave deben tratarse por vía parenteral (p. ej., trimetoprim-sulfametoxazol o una cefalosporina de tercera generación como ceftazidima); a veces son útiles las combinaciones terapéuticas. Para pacientes menos graves puede emplearse la terapéutica por vía oral a base de tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazol o cloranfenicol, casi siempre en combinación. La terapéutica antimicrobiana debe durar al menos ocho semanas; también debe considerarse terapéutica durante seis meses a un año para los pacientes con lesiones supurantes extrapulmonares. Son comunes las recaídas

y aún no se han determinado el antibiótico óptimo y la duración del tratamiento para evitar las recaídas. No hay vacuna ni medidas preventivas específicas.

3. BURKHOLDERIA MALLEI

La *B. mallei* es un pequeño bacilo gramnegativo desprovisto de motilidad, no pigmentado y aerobio, que crece con facilidad sobre la mayor parte de los medios bacteriológicos. Causa **muermo**, enfermedad de caballos, mulas y burros, transmisible al ser humano. En los caballos, la enfermedad afecta principalmente al pulmón, produce lesiones ulcerantes subcutáneas y engrosamiento de los linfáticos con nódulos; también se observa la enfermedad sistémica. En humanos, la infección puede ser mortal; generalmente se inicia como una úlcera cutánea o mucosa seguida por linfangitis y septicemia. La inhalación del microorganismo puede producir neumonía primaria.

El diagnóstico se basa en el aumento de los títulos de la aglutinina y en el cultivo del microorganismo a partir de lesiones locales en humanos o caballos. En humanos, el tratamiento eficaz consiste en una tetraciclina junto con un aminoglucósido.

La enfermedad se ha controlado con la matanza de caballos y mulas infectados y en la actualidad es poco común. En algunos países, las infecciones contraídas en los laboratorios constituyen la única fuente de la enfermedad.

4. BURKHOLDERIA CEPACIA

Burkholderia cepacia es un microorganismo del ambiente con capacidad para proliferar en agua, tierra, plantas, animales y materiales vegetales en descomposición. En hospitales, *B. cepacia* se ha aislado de una gran variedad de fuentes acuáticas y ambientales a partir de las cuales la bacteria se transmite a los pacientes. Los enfermos de fibrosis quística son vulnerables de padecer infección por *B. cepacia*; pueden ser portadores asintomáticos, sufrir deterioro progresivo durante algunos meses, hasta deterioro de rápida evolución con neumonía necrosante y bacteriemia. Aunque un porcentaje relativamente bajo de pacientes con fibrosis quística se infectan, su asociación con enfermedades progresivas crónicas hace de *B. cepacia* un problema preocupante en estos pacientes. Es factible que *B. cepacia* se pueda transmitir de un paciente con fibrosis quística a otro a través de contacto directo.

B. cepacia crece en la mayoría de los medios utilizados para el cultivo de muestras de pacientes dirigidos a la identificación de bacterias gramnegativas; también se pueden emplear medios selectivos. *B. cepacia* crece más lentamente que los bacilos entéricos gramnegativos, y puede tomar hasta tres días antes de que las colonias sean visiblemente evidentes. La diferenciación entre *B. cepacia* y otras pseudomonas, incluyendo *Stenotrophomonas maltophilia*, requiere toda una batería de pruebas bioquímicas y no es un procedimiento sencillo. Debido a las implicaciones pronósticas de colonización en pacientes con fibrosis quística, se recomienda el envío inmediato de los aislados a laboratorios de referencia. Las pruebas de susceptibilidad se deben realizar en todo aislado de *B. cepacia*, aunque su lento cre-

cimiento puede dificultar la metodología de rutina. *B. cepacia* obtenida de pacientes con fibrosis quística suele ser resistente a múltiples fármacos.

5. STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA

La *S. maltophilia* es un bacilo gramnegativo que vive libre y ampliamente distribuido en el ambiente. Sobre agar sangre las colonias presentan color gris o verde lavanda. El microorganismo es oxidasa-negativo y lisina descarboxilasa positivo.

La *S. maltophilia* es causa cada vez más importante de infecciones nosocomiales en pacientes a quienes se administra terapéutica antimicrobiana y en pacientes inmunodeficientes. Se aísla de muchos sitios anatómicos, incluso de las secreciones del aparato respiratorio, orina, heridas de la piel y sangre. Los microorganismos aislados con frecuencia son parte de la flora mixta presente en las muestras. Cuando el hemocultivo es positivo comúnmente se relaciona con el empleo de un catéter de plástico intravenoso permanente.

En general, la *S. maltophilia* es susceptible al trimetoprim-sulfametoxazol y a la ticarcilina con ácido clavulánico y resistente a otros antimicrobianos de uso común, incluso cefalosporinas, aminoglucósidos, imipenem y quinolonas. El uso muy extendido de fármacos a los cuales es resistente la *S. maltophilia* desempeña una función importante en la mayor frecuencia de enfermedad causada por este microorganismo.

6. OTRAS PSEUDOMONAS

Algunos de los muchos géneros y especies del grupo pseudomonas se muestran en el cuadro 17-1. En ocasiones estas pseudomonas son patógenos oportunistas. El diagnóstico de las infecciones causadas por estas pseudomonas se establece mediante el cultivo de la bacteria y su identificación mediante reacciones diferenciales sobre un conjunto complejo de sustratos bioquímicos. Muchas especies que no son *P. aeruginosa* no son fermentadoras y son difíciles de identificar con los métodos normales; a veces es necesario remitir las muestras a un laboratorio de referencia para lograr una identificación definitiva. Muchas de las pseudomonas muestran patrones de susceptibilidad antimicrobiana diferentes de las de *P. aeruginosa*.

ACINETOBACTER

Las especies acinetobacter son bacterias aerobias gramnegativas ampliamente distribuidas en agua y tierra y, ocasionalmente, pueden cultivarse a partir de piel, membranas mucosas, secreciones y en el medio hospitalario.

Acinetobacter baumannii es la especie más aislada. *Acinetobacter iwoffi*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter haemolyticus* y otras especies se aíslan esporádicamente. Algunos aislados no han recibido nombres de especie. Antes, las bacterias acinetobacter también solían ser denominadas con una gran diversidad de nombres incluyendo

Mima polymorpha y *Herellae vagincola*, reflejando muchas de las características de los microorganismos.

Por lo general, el acinetobacter tiene aspecto cocobacilar o cocoide; en los frotis se parece a la neisseria debido al predominio de formas diplocólicas en líquidos corporales y en medios sólidos. También se encuentran formas bacilares, y en ocasiones las bacterias parecen ser grampositivas. Acinetobacter crece bien en casi todo tipo de medio empleado para el cultivo de las muestras de pacientes. Los acinetobacter recuperados de meningitis y septicemia a veces se confunden con la *Neisseria meningitidis*; de manera similar, acinetobacter aislado del aparato genital femenino se puede confundir con la *Neisseria gonorrhoeae*. Sin embargo, la neisseria produce oxidasa y los acinetobacter, no.

Con frecuencia, acinetobacter son comensales, pero en ocasiones causan infecciones nosocomiales. El *A. baumannii* se puede aislar de sangre, esputo, piel, líquido pleural y orina, generalmente en infecciones asociadas con dispositivos. El *A. johnsonii* es un patógeno nosocomial de escasa virulencia encontrado en los hemocultivos de pacientes con catéter de plástico intravenoso. Los acinetobacter encontrados en la neumonía nosocomial con frecuencia se originan en el agua o en humidificadores o vaporizadores del ambiente. En pacientes con bacteriemia por acinetobacter, los catéteres intravenosos casi siempre son fuente de infección. En pacientes con quemaduras o deficiencia inmunitaria, el acinetobacter actúa como patógeno oportunista y puede producir septicemia. Las cepas de acinetobacter casi siempre son resistentes a los antimicrobianos y la terapéutica de la infección puede ser difícil. Se deben efectuar pruebas de susceptibilidad para ayudar a seleccionar el mejor antimicrobiano para el tratamiento. Las cepas de acinetobacter responden con más frecuencia a gentamicina, amikacina o tobramicina y a penicilinas o a las cefalosporinas más recientes.

BACTERIAS GRAMNEGATIVAS POCO COMUNES

Actinobacillus

El *Actinobacillus* (*Haemophilus*) *actinomycetemcomitans* es un microorganismo pequeño, coco-bacilar y gramnegativo que crece lentamente. Como su nombre lo implica, con frecuencia se encuentra en las actinomicosis. También causa enfermedad periodontal grave en adolescentes, así como endocarditis, abscesos, osteomielitis y otras infecciones. Se le puede tratar con tetraciclina o cloranfenicol y a veces con penicilina G, ampicilina o eritromicina.

Alcaligenes

El grupo alcaligenes incluye cuatro especies de bacilos gramnegativos oxidasa-positivos. Poseen flagelos peritricos y están dotados de motilidad, lo que los diferencia de las pseudomonas. Alcalinizan el medio de citrato y el medio de oxidación-fermentación que contiene glucosa, y son ureasa-negativos. Pueden ser parte de la flora bacteriana normal humana y se han aislado de aparatos respiradores, nebulizadores y de sistemas de diálisis renal. En ocasiones se han aislado de

orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, heridas y abscesos. El *Alcaligenes xylosoxidans* subespecie *xylosoxidans* se ha aislado de muchos sitios del cuerpo, pero es poco común como causa única de infección.

Capnocytophaga

Las especies de capnocytophaga son bacilos gramnegativos de crecimiento lento, capnófilos y fusiformes o filamentosos. Son fermentadores y anaerobios facultativos que requieren CO₂ para su crecimiento en medio aeróbico. Pueden mostrar motilidad por deslizamiento, la cual a veces se observa como crecimiento de las colonias hacia el exterior. Producen una sustancia que modifica la actividad quimiotáctica de las células polimorfonucleares. La *Capnocytophaga ochracea*, la *Capnocytophaga sputigena* y la *Capnocytophaga gingivalis* son miembros de la flora normal bucal en humanos. Se les ha vinculado con enfermedad periodontal grave en pacientes jóvenes. En ocasiones causan bacteriemia y enfermedad sistémica grave en pacientes inmunodeficientes, en especial en pacientes con granulocitopenia y úlceras en la boca. La *Capnocytophaga canimorsis*, anteriormente conocido como DF-2, es miembro de la flora bucal del perro. En ocasiones se transmite a humanos y causa infección fulminante en pacientes esplénicos, alcohólicos, y pocas veces en personas sanas. La *Capnocytophaga cynodegmi* (parecida a DF-2) se asocia con la infección de las heridas por mordedura de perro, gato o del arañazo de este último.

Cardiobacterium

Otra bacteria con nombre descriptivo es *Cardiobacterium hominis*, un bacilo anaerobio facultativo, pleomorfo y gramnegativo que constituye parte de la flora normal de las vías respiratorias superiores y del intestino, y en ocasiones causa endocarditis. Con un medio de cultivo sanguíneo moderado, ya no es necesario mantener cultivos sanguíneos por más del periodo de incubación normal de 5 a 7 días para cultivar *cardiobacterium*.

Cromobacterias

El *Chromobacterium violaceum* es un bacilo gramnegativo parecido a pseudomonas. Este microorganismo suele producir un pigmento de color violeta. Se encuentra en climas subtropicales en el suelo y el agua; puede infectar animales y humanos a través de heridas en la piel o por el intestino. Se pueden producir abscesos, diarrea y septicemia con mortalidad elevada. Con frecuencia las cromobacterias son susceptibles al cloranfenicol, tetraciclinas y aminoglucósidos.

Eikenella corrodens

La *E. corrodens* es un pequeño bacilo gramnegativo, capnófilo, de requerimientos nutricionales complejos que constituyen parte de la flora gingival e intestinal en 40 a 70% de los humanos. Casi 50% de los microorganismos

aislados forman depresiones en el agar durante los días de incubación requeridos para su crecimiento. La eikenella es oxidasa-positiva y no fermenta los carbohidratos. Se encuentra en la flora mixta de infecciones asociadas con contaminación por microorganismos de la mucosa bucal o intestinal; casi siempre se acompaña de estreptococos. Con frecuencia se observa en infecciones por mordedura de humano y suele ser resistente a la clindamicina, y así este antibiótico puede emplearse para elaborar un medio agar selectivo. La eikenella casi siempre es susceptible a ampicilina, penicilinas y cefalosporinas más recientes.

Criseobacterias

Los organismos del grupo criseobacterias son bacilos alargados, delgados, desprovistos de motilidad, gramnegativos, oxidasa-positivos, proteolíticos y débilmente fermentadores. Con frecuencia forman colonias distintivas de color amarillo. Por lo general se encuentran en el drenaje de los vertederos, llaves de agua y equipo médico que ha sido expuesto a agua contaminada y no se esteriliza. En ocasiones las criseobacterias colonizan el aparato respiratorio. El *Chryseobacterium meningosepticum* pocas veces causa meningitis. Con frecuencia, las especies de criseobacterias son resistentes a muchos antimicrobianos.

Kingella

El grupo *Kingella* incluye tres especies de las cuales la *Kingella kingae* es un microorganismo oxidasa-positivo desprovisto de motilidad y hemolítico cuando crece sobre agar sangre. Es un bacilo gramnegativo, pero son comunes las formas cocobacilares y diplocócicas. Es parte de la flora bucal normal y en ocasiones causa infecciones de huesos, articulaciones y tendones. El microorganismo probablemente entra a la circulación por traumatismo bucal mínimo como el lavado de dientes. Es susceptible a penicilina, ampicilina, eritromicina y otros antimicrobianos.

Moraxella

El grupo moraxella incluye seis especies. Carecen de motilidad, son no fermentadoras y oxidasa-positivas. En la tinción aparecen bacilos, cocobacilos o cocos pequeños gramnegativos. Son miembros de la flora normal de las vías respiratorias superiores y en ocasiones causan bacteriemia, endocarditis, conjuntivitis, meningitis u otras infecciones. La mayor parte son susceptibles a la penicilina y otros antimicrobianos. La *Moraxella catarrhalis* con frecuencia produce β lactamasa (capítulo 21).

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un bombero de 37 años de edad experimenta inhalación de humo y es hospitalizado para apoyo ventilatorio. El paciente presenta tos aguda y comienza a expectorar esputo purulento. La tinción de Gram de la

muestra de su esputo muestra numerosas células polimorfonucleares y gran cantidad de bastoncillos gramnegativos. En el cultivo de esputo se desarrollan numerosos bastoncillos gramnegativos que son positivos a oxidasa. Se desarrollan bien a 42 °C. En medio de agar claro producen un color azul verdoso en el agar. El agar donde se localiza el color azul verdoso fluorescente cuando se expone a la luz ultravioleta. El organismo causante de la infección del paciente es:

- A. *Burkholderia cepacia*
 - B. *Klebsiella pneumoniae*
 - C. *Escherichia coli*
 - D. *Pseudomonas aeruginosa*
 - E. *Burkholderia pseudomallei*
2. El pigmento que produce el microorganismo de la pregunta 1 es
 - A. Verde aguamarina
 - B. Aerobactina
 - C. Enterocelina
 - D. Ploverdina
 - E. Prodigiosina
 3. Un bacilo ambiental gramnegativo que es resistente a cefalosporinas, aminoglucósidos y quinolonas se ha convertido en un patógeno nosocomial muy importante en gran medida porque es seleccionado por el uso de los antibióticos antes mencionados. Este bacilo gramnegativo puede tomar dos a tres días para desarrollarse y debe ser diferenciado de *Burkholderia cepacia*. Se trata de:
 - A. *Pseudomonas aeruginosa*
 - B. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*
 - C. *Alcaligenes xylosoxidans*
 - D. *Klebsiella pneumoniae*
 - E. *Stenotrophomonas maltophilia*
 4. Una muchacha de 17 años de edad con fibrosis quística tiene un ligero aumento en su tos frecuente y producción de esputo mucoso. Se obtiene una muestra de esputo y se extiende en un medio de cultivo rutinario. Los crecimientos predominantes son bacilos gramnegativos que forman colonias mucoides después de 48 h de incubación. Estos bacilos son oxidasa positivos, crecen a 42 °C y tienen un olor parecido a uvas. Estos bacilos gramnegativos son:
 - A. *Klebsiella pneumoniae*
 - B. *Pseudomonas aeruginosa*
 - C. *Staphylococcus aureus*
 - D. *Streptococcus pneumoniae*
 - E. *Burkholderia cepacia*
 5. El microorganismo que crece en las colonias mucoides en el medio rutinario (pregunta 4) tiene más probabilidades de encontrarse en las vías respiratorias del paciente
 - A. Dentro de las células epiteliales
 - B. Adherido fuertemente a las células epiteliales
 - C. En desarrollo dentro de las células polimorfonucleares
 - D. En una biocapa
 - E. En ninguna de las anteriores
 6. El esputo de la paciente de 17 años de edad con fibrosis quística (pregunta 4) también se extiende sobre agar sal manitol, que se vuelve amarillo (a partir del rosa) donde se desarrollan las colonias blancas de cocos grampositivos; los cocos son catalasa positivos y coagulasa positivos. Los organismos que se desarrollan en el agar sal y manitol son:
 - A. *Burkholderia cepacia*
 - B. *Streptococcus pneumoniae*
 - C. *Stenotrophomonas maltophilia*
 - D. *Staphylococcus aureus*
 - E. *Streptococcus pyogenes*

7. El esputo de la paciente de 17 años de edad con fibrosis quística (pregunta 4) también se extiende sobre un agar que contiene colistina. Después de 72 h de incubación, en el agar que contiene colistina, se desarrollan bacilos gramnegativos que son oxidasa positivos pero que de otro modo son difíciles de identificar. Este microorganismo es de interés principal. Se envía a un laboratorio de referencia de modo que se puedan usar métodos moleculares para identificar alguna de las siguientes bacterias:
 - A. *Pseudomonas aeruginosa*
 - B. *Burkholderia cepacia*
 - C. *Haemophilus influenzae*
 - D. *Pseudomonas putida*
 - E. *Burkholderia pseudomallei*
8. *Burkholderia cepacia* se encuentra pocas veces en o sobre:
 - A. Albercas
 - B. El suelo
 - C. Agua estancada
 - D. Plantas
9. El mecanismo de acción de la exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa* es
 - A. Activar la esterasa de acetilcolina
 - B. Bloquear el factor 2 de elongación (EF2)
 - C. Formar poros en las células blancas e incrementar la permeabilidad catiónica
 - D. Incrementar el monofosfato de adenosina cíclico intracelular
 - E. Dividir la lecitina en fosforilcolina y diacilglicerol
10. Este bacilo gramnegativo, que es oxidasa positivo y no fermenta carbohidrato, por lo común se encuentra en infecciones por mordedura de humano
 - A. *Escherichia coli*
 - B. *Neisseria meningitidis*
 - C. *Chromobacterium violaceum*
 - D. *Eikenella corrodens*
 - E. *Proteus mirabilis*

Respuestas: 1 = D; 2 = D; 3 = E; 4 = B; 5 = D; 6 = D; 7 = B; 8 = A; 9 = B; 10 = B

REFERENCIAS

- Gilligan PH et al.: *Burkholderia*, *Sienotrophomonas*, *Ralstonia*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Delftia*, *Pandoraea* and *Acidovorax*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Kiska DL, Gilligan PH: *Pseudomonas*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Pottlack M: *Pseudomonas aeruginosa*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Schreckenberger PC et al.: *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Methylobacterium*, and other nonfermentative gram-negative rods. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Vartivarian S, Anaisie E: *Sienotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.

Vibriones, campilobacterias, helicobacterias y bacterias relacionadas

Las especies de vibrio, aeromonas, plesiomonas, campylobacter y helicobacter son bacilos gramnegativos ampliamente distribuidos en la naturaleza. Los vibriones se encuentran en aguas marinas y superficiales. Las aeromonas se encuentran predominantemente en agua dulce y a veces en animales de sangre fría. Las plesiomonas viven en animales de sangre fría y sangre caliente. Las campilobacterias están presentes en muchas especies de animales, incluso varias domésticas. El *Vibrio cholerae* produce una enterotoxina que causa el cólera, una diarrea acuosa profusa que conduce rápido a deshidratación y muerte. El *Campylobacter jejuni* es causa común de enteritis en humanos. Con menor frecuencia se han asociado aeromonas y pocas veces plesiomonas con la enfermedad diarreica en humanos. El *Helicobacter pylori* causa gastritis y enfermedad por úlcera duodenal.

VIBRIONES

Los vibriones se encuentran entre las bacterias más comunes de aguas poco profundas en todo el mundo. Son bacilos aerobios curvos, dotados de motilidad, que poseen un flagelo polar. Los serogrupos O1 y O139 causan el cólera en humanos, en tanto que otros vibriones pueden causar septicemia o enteritis. Los vibriones importantes desde el punto de vista médico se muestran en el cuadro 18-1.

1. VIBRIO CHOLERA

La epidemiología del cólera se ha desarrollado en forma paralela al conocimiento de la transmisión del *V. cholerae* por el agua y al desarrollo de sistemas hidráulicos sanitarios.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

En los aislamientos iniciales, el *V. cholerae* es un bacilo curvo en forma de coma, de 2 a 4 µm de longitud (figura

18-1). Presenta motilidad activa por medio de un flagelo polar. En cultivo prolongado, los vibriones pueden convertirse en bacilos rectos parecidos a bacterias entéricas gramnegativas.

B. Cultivo

El *V. cholerae* produce colonias convexas lisas, redondas, opacas y granulares con luz transmitida. El *V. cholerae* y la mayor parte de otros vibriones crecen bien a 37 °C sobre muchos tipos de medios, incluso medios definidos que contienen sales minerales y asparagina como fuentes de carbono y nitrógeno. *V. cholerae* se desarrolla bien en agar de tiosulfato-citrato-bilis-sucrosa (TCBS), en el que produce colonias amarillas que son fácilmente visibles contra el fondo verde-oscuro del agar. Los vibriones son oxidasa-positivos, lo cual los diferencia de bacterias entéricas gramnegativas. Típicamente, los vibriones crecen a pH muy alto (8.5 a 9.5) y los ácidos los destruyen con rapidez; por tanto, los cultivos que contienen carbohidratos fermentables se hacen estériles muy pronto.

Cuadro 18-1. Vibriones de importancia médica

Microorganismo	Enfermedad en los humanos
<i>V. cholerae</i> , serogrupos O1 y O139	Cólera epidémica y pandémica
<i>V. cholerae</i> , serogrupos no O1/no O139	Diarrea similar a cólera; diarrea leve; pocas veces infección extraintestinal
<i>V. parahaemolyticus</i>	Gastroenteritis, quizá infección extraintestinal
Otros <i>V. mimicus</i> , <i>V. vulnificus</i> , <i>V. hollisae</i> , <i>V. fluvialis</i> , <i>V. damsela</i> , <i>V. anguillarum</i> , <i>V. metschnikovii</i>	Infecciones del oído, de heridas, tejidos blandos y otras infecciones extraintestinales; todas son poco comunes



Figura 18-1. *Vibrio cholerae* crecido en caldo. Se observan bacilos gramnegativos ligeramente curvos.

En las regiones de cólera endémico es apropiado efectuar cultivos directos de heces sobre medios selectivos como TCBS y enriquecer los cultivos con agua alcalina de peptona. Sin embargo, en las regiones donde el cólera es poco frecuente, en general no se requieren cultivos sistemáticos de heces sobre medios especiales como TCBS, ni son adecuados desde el punto de vista costo-eficacia.

C. Características del crecimiento

Por lo regular, el *V. cholerae* fermenta la sacarosa y la manosa pero no la arabinosa. Una prueba oxidasa-positiva es una etapa clave en la identificación preliminar del *V. cholerae* y otros vibrones. Las especies de vibrio son susceptibles al compuesto O/129 (fosfato de 2,4-diamino-6,7-diisopropilpteridina), que las diferencia de especies de aeromonas resistentes a esta sustancia. La mayor parte de las especies de vibrio son halotolerantes, y con frecuencia el NaCl estimula su crecimiento. Algunos vibrones son halofílicos y requieren NaCl para crecer. Otra diferencia entre vibrones y aeromonas es que los primeros crecen sobre medios con 6% de NaCl mientras las segundas no.

Estructura antigénica y clasificación biológica

Muchos vibrones comparten un solo antígeno flagelar H termolábil. Tal vez los anticuerpos al antígeno H no participan en la protección de huéspedes susceptibles.

El *V. cholerae* posee lipopolisacáridos O que le confieren especificidad serológica. Existen al menos 139 grupos de antígenos O. Las cepas del *V. cholerae* de los grupos O1 y O139 causan el cólera típico; en ocasiones, el *V. cholerae* que no es O1 ni O139 causa enfermedad similar al cólera. Los anticuerpos a los antígenos O tienden a proteger animales de laboratorio contra las infecciones por *V. cholerae*.

El antígeno al serogrupo O1 del *V. cholerae* posee determinantes que permiten una tipificación adicional: los principales serotipos son Ogawa e Inaba. Se han definido dos biotipos del *V. cholerae* epidémico: el clásico y El Tor. El biotipo El Tor produce una hemolisina, es positivo en la prueba de Voges-Proskauer y resistente a la polimixina B. También pueden emplearse técnicas moleculares para tipificar el *V. cholerae*. La tipificación es útil en estudios epidemiológicos y las pruebas generalmente sólo se efectúan en los laboratorios de referencia.

El *V. cholerae* O139 es muy similar al *V. cholerae* O1-biotipo El Tor. El *V. cholerae* O139 no produce lipopolisacárido O1 y no posee todos los genes necesarios para elaborar este antígeno. El *V. cholerae* O139 elabora un polisacárido capsular como el de otras cepas de *V. cholerae* no O1, en tanto que el *V. cholerae* O1 no elabora cápsula alguna.

Enterotoxina de *Vibrio cholerae*

El *V. cholerae* y los vibrones relacionados producen una enterotoxina termolábil con peso molecular de casi 84 000 que consta de subunidades A (PM 28 000) y B (capítulo 10). El gangliósido GM₁ en la mucosa sirve como receptor de la subunidad B que favorece la entrada de la subunidad A en la célula. La activación de la subunidad A₁ incrementa la concentración de cAMP intracelular y produce hipersecreción prolongada de agua y electrolitos. Hay incremento de la secreción de cloro dependiente de sodio, y se inhibe la absorción del sodio y del cloro. Aparece diarrea, hasta 20 a 30 L/d, con la deshidratación producida, choque, acidosis y muerte. Los genes para la enterotoxina del *V. cholerae* se encuentran en cromosomas bacterianos. La enterotoxina del cólera se relaciona antigénicamente con la LT de la *Escherichia coli* y puede estimular la producción de anticuerpos neutralizantes. Sin embargo, todavía no está clara la función precisa de los anticuerpos antitóxicos y antibacterianos en la protección contra el cólera.

Patogenia y patología

En condiciones naturales, el *V. cholerae* sólo es patógeno para humanos. Una persona con acidez gástrica normal puede necesitar la ingestión de hasta 10^{10} o más *V. cholerae* para infectarse cuando el vehículo es agua o líquidos, ya que los microorganismos son susceptibles al ácido. Cuando el vehículo es un alimento, tan sólo 10^2 – 10^4 microorganismos son necesarios para causar infección debido a la capacidad amortiguadora (buffer) del alimento. Cualquier medicación o condición que disminuye la acidez estomacal confiere mayor susceptibilidad para que la persona se infecte con *V. cholerae*.

El cólera no es una infección invasora. Los microorganismos no alcanzan el torrente sanguíneo, sino que perma-

necen en el intestino. Los microorganismos del *V. cholerae* virulentos se unen a las microvellosidades del borde en cepillo de las células epiteliales. Allí se multiplican y liberan toxinas, y quizá mucinasas y endotoxinas.

Datos clínicos

Alrededor de 60% de las infecciones causadas por *V. cholerae* típica son asintomáticas, así como también sucede con 75% de las infecciones causadas por el biotipo El Tor. El periodo de incubación es de 1 a 4 días para aquellas personas que sí presentan síntomas, dependiendo mucho del tamaño del inóculo ingerido. Después de un periodo de incubación de 1 a 4 días se inician de manera súbita náuseas, vómito y diarrea profusa con cólicos abdominales. Las evacuaciones, parecidas a "agua de arroz", contienen moco, células epiteliales y un gran número de vibrones. Hay pérdida rápida de líquidos y electrólitos que conduce a deshidratación profunda, colapso circulatorio y anuria. Sin tratamiento, la tasa de mortalidad es de 25 a 50%. En presencia de epidemia, no hay dificultad alguna para diagnosticar un caso florido de cólera. Sin embargo, los casos esporádicos y leves no son fáciles de diferenciar de otras enfermedades diarreicas. El biotipo El Tor tiende a causar enfermedad más leve que el biotipo clásico.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras para cultivo consisten en tomar moco de las heces.

B. Frotis

El aspecto microscópico de los frotis elaborados a partir de muestras de heces no es distintivo. El examen microscópico en campo oscuro o con microscopio de contraste de fase puede mostrar vibrones con motilidad rápida.

C. Cultivo

Crecen con rapidez en agar peptona, en agar sangre con pH cercano a 9.0, o sobre agar TCBS, y en 18 h se pueden observar colonias típicas. Pueden incubarse unas pocas gotas de heces, para enriquecimiento, durante 6 a 8 h en caldo taurocolato-peptona (pH 8.0 a 9.0); los microorganismos de este cultivo se pueden teñir o subcultivar.

D. Pruebas específicas

Los microorganismos del *V. cholerae* pueden identificarse, además, mediante pruebas de aglutinación en laminilla que utilizan antisuero anti-O grupo 1 y por patrones de reacción bioquímica.

Inmunidad

El ácido gástrico suministra cierta protección contra los vibrones del cólera.

Un ataque de cólera va seguido de inmunidad a la infección, pero se desconocen la duración y el grado de inmu-

nidad. En animales de experimentación aparecen anticuerpos IgA específicos en la luz del intestino. Anticuerpos séricos similares se desarrollan después de la infección, pero sólo duran unos cuantos meses. Los títulos $\geq 1:20$ de anticuerpos vibriocidas en suero se han vinculado con protección contra la colonización y la enfermedad. La presencia de anticuerpos antitoxina no se ha relacionado con protección.

Tratamiento

Lo más importante del tratamiento es restituir el agua y los electrólitos para corregir la deshidratación grave y la pérdida de sales. Muchos agentes antimicrobianos son eficaces contra el *V. cholerae*. La tetraciclina por vía oral tiende a reducir la cantidad de materia fecal expulsada y acorta el periodo de excreción de vibrones. En algunas regiones endémicas han surgido *V. cholerae* resistentes a la tetraciclina, transportados por plásmidos infecciosos.

Epidemiología, prevención y control

Seis pandemias (epidemias mundiales) de cólera se suscitaron entre 1817 y 1923, al parecer causadas principalmente por *V. cholerae* O1 del biotipo clásico y originadas en su mayoría en Asia, generalmente en el subcontinente indio. La séptima pandemia comenzó en 1961 en las islas Celebes, Indonesia, con expansión a Asia, Medio Oriente y África. Esta pandemia la causó *V. cholerae* biotipo El Tor. A comienzos de 1991, la séptima pandemia se extendió a Perú y después a otros países de América del Sur y América Central. También se presentaron casos en África. Millones de personas han padecido cólera en esta pandemia. Algunos consideran al cólera causado por la cepa de serotipo O139 como la octava pandemia que comenzó en el subcontinente indio en 1992 a 1993, con diseminación a Asia. El cólera, desde mediados del siglo XIX, ha sido muy raro en América del Norte, aunque en las costas del golfo de Luisiana y Texas existe un foco endémico.

El cólera es endémico en India y el sureste de Asia. A partir de estos centros se ha desplazado a lo largo de las rutas de los navegantes, vías de comercio y de migración de peregrinos. La enfermedad se propaga por contacto de una persona a otra e implica a las personas con enfermedad leve o inicial, y por agua, alimentos y moscas. En muchos casos, sólo 1 a 5% de las personas susceptibles expuestas desarrollan la enfermedad. El estado de portador pocas veces excede 3 a 4 semanas y los verdaderos portadores crónicos son raros. Los vibrones sobreviven en el agua unas tres semanas.

El control se basa en la educación y en mejorar las condiciones sanitarias, en particular de los alimentos y del agua. Debe aislarse a los pacientes, desinfectar sus excretas y efectuar el seguimiento de los contactos. La quimioprofilaxis con antimicrobianos puede tener cierta función. Las inyecciones repetidas de una vacuna con lipopolisacáridos extraídos del vibrión o suspensión densa de vibrones pueden conferir protección limitada a personas sometidas a exposición intensa (p. ej., contactos en la familia), pero no es eficaz como medida para controlar las epidemias. Muy pocos países requieren a los viajeros que llegan proceden-

tes de áreas endémicas que se sometan a inmunización con estas vacunas. El certificado de vacunación contra cólera de la OMS sólo es válido seis meses.

2. *VIBRIO PARAHAEMOLYTICUS* Y OTROS VIBRIONES

El *Vibrio parahaemolyticus* es una bacteria halofílica que causa gastroenteritis aguda cuando se ingieren mariscos contaminados por esta bacteria, como pescado crudo o mariscos de concha. Después de un periodo de incubación de 12 a 24 h se presentan náuseas y vómito, cólicos abdominales, fiebre y diarrea acuosa o sanguinolenta. Con frecuencia se observan leucocitos en heces. La enteritis tiende a ceder de manera espontánea en 1 a 4 días sin más tratamiento que el restablecimiento del equilibrio hidroelectrolítico. No se ha aislado enterotoxina alguna de este microorganismo. La enfermedad se observa en todo el mundo, con mayor incidencia en lugares donde las personas comen mariscos crudos. El *V. parahaemolyticus* no crece bien sobre algunos de los medios diferenciales empleados para desarrollar salmonelas y shigelas, pero crece bien sobre agar sangre. También crece bien sobre TCBS, donde produce colonias de color verde. El *V. parahaemolyticus* generalmente se identifica por un crecimiento oxidasa-positivo sobre agar sangre.

El *Vibrio vulnificus* puede causar infección grave en heridas, bacteriemia y tal vez gastroenteritis. Es una bacteria que vive libremente en los estuarios y en EUA se encuentra en las costas del Atlántico, del Golfo de México y del Pacífico. Se han informado infecciones en Corea, y los microorganismos pueden distribuirse en todo el mundo. El *V. vulnificus* es bastante común en los ostiones, sobre todo en los meses cálidos. La bacteriemia sin foco alguno de infección se presenta en personas que han ingerido ostras infectadas y en quienes son alcohólicos o padecen enfermedad hepática. Las personas sanas o inmunodeficientes pueden sufrir la infección de heridas en contacto con agua donde la bacteria está presente. Con frecuencia, la infección evoluciona con rapidez y genera enfermedades graves. Casi 50% de los pacientes con bacteriemia mueren. En las heridas la infección puede ser leve, pero con frecuencia evoluciona con rapidez (unas cuantas horas) con desarrollo de lesiones cutáneas bulosas, celulitis y miositis con necrosis. Debido a la rápida evolución de la infección, casi siempre es necesario tratarla con antibióticos apropiados antes que el cultivo confirme la etiología. El diagnóstico es por cultivo del microorganismo sobre medios comunes de laboratorio; el TCBS es el medio preferido para cultivo de las heces, donde la mayor parte de las cepas producen colonias de color azul-verdoso (sacarosa-negativas).

La tetraciclina parece ser el fármaco de elección contra la infección por *V. vulnificus*; la ciprofloxacina también puede ser eficaz con base en su actividad *in vitro*.

Varios otros vibriones también producen enfermedad en humanos; el *Vibrio mimicus* causa diarrea cuando contaminan mariscos que se ingieren sin cocinar, en particular ostiones crudos. El *Vibrio cholerae* y el *Vibrio fluvialis* también causan diarrea. *Vibrio alginolyticus* causa infecciones en ojo, oído o heridas después de la exposición al agua de mar. El

Vibrio damsela también infecta las heridas. Otros vibriones son causa muy rara de enfermedad en humanos.

AEROMONAS

La taxonomía del género aeromonas se encuentra en vías de transición: el género se ha situado en la nueva familia Aeromonadaceae derivada de la familia Vibrionaceae. Con base en la hibridación del DNA se han identificado muchas más genoespecies: algunas son especies renombradas, otras poseen nombres nuevos y algunas otras todavía no tienen un nombre asignado. Las tres especies siguientes poseen una gran relevancia clínica por su participación en infecciones humanas: complejo de *A. hydrophila*, complejo de *A. caviae* y *Aeromonas venenii*, *Aeromonas biovar* y *Aeromonas sobria*.

Las aeromonas son de 1 a 4 µm de longitud y son móviles. La morfología de sus colonias es similar a la de los bacilos entéricos gramnegativos (capítulo 16), y producen zonas amplias de hemólisis sobre agar sangre. Las especies de aeromonas cultivadas de muestras fecales crecen con rapidez sobre el medio diferencial empleado para cultivar los bacilos entéricos gramnegativos y fácilmente pueden confundirse con bacterias entéricas. Las especies de aeromonas se distinguen de los bacilos entéricos gramnegativos por la presencia de una reacción oxidasa positiva en el crecimiento obtenido sobre una placa agar sangre. Las especies aeromonas se diferencian de los vibriones por su resistencia al compuesto O/129 (véase antes) y por no crecer sobre los medios que contienen 6% de NaCl.

Típicamente, las aeromonas producen hemolisina. Algunas cepas producen una enterotoxina. En cultivo de tejidos se han observado citotoxinas y capacidad para invadir células. Sin embargo, no se ha demostrado que alguna de estas características guarde una vinculación clara con la enfermedad diarreica en humanos. No se satisfacen los postulados de Koch, principalmente debido a la falta de un modelo animal adecuado para reproducir el cuadro diarreico atribuido a las aeromonas en humanos.

Algunas cepas de aeromonas son susceptibles a tetraciclinas, aminoglicósidos y cefalosporinas.

PLESIOMONAS

Plesiomonas shigelloides es un bacilo gramnegativo con flagelo polar. Las plesiomonas son más comunes en regiones tropicales y subtropicales. Se les aísla de sucesos de agua dulce y de muchos animales. La mayor parte de las plesiomonas aisladas en humanos proceden de los coprocultivos de pacientes con diarrea. Crecen sobre el medio diferencial empleado para aislar salmonela y shigela de muestras de heces (capítulo 16). Algunas cepas de plesiomonas comparten antígenos con *Shigella sonnei*, y puede presentarse reacción cruzada con el antisuero de la shigela. En heces diarreicas pueden distinguirse las plesiomonas de las shigelas mediante la prueba de oxidasa: las plesiomonas son oxidasa-positivas, y las shigelas, no. Las *Plesiomonas* son positivas a DNasa; ésta y otras pruebas bioquímicas las distinguen de las aeromonas.

CAMPILOBACTERIAS

Las campilobacterias causan enfermedades tanto diarreicas como sistémicas y se encuentran entre las causas infecciosas de mayor distribución mundial; la infección por campilobacterias de animales domesticados también muestra una amplia distribución. La clasificación de las bacterias dentro de la familia Campylobacteriaceae suele modificarse con frecuencia. Algunas especies previamente clasificadas como campilobacterias se reclasificaron en el género *helicobacter*. El género *arcobacter* se creó recientemente. Los microorganismos que causan enfermedades intestinales o sistémicas se tratarán en esta sección; *Helicobacter pylori*, que causa infección gástrica, se abordará en otra sección separada, más adelante. *Campylobacter jejuni* es el microorganismo prototipo del grupo y es una causa muy común de diarrea en humanos.

1. CAMPYLOBACTER JEJUNI Y CAMPYLOBACTER COLI

El *Campylobacter jejuni* y el *Campylobacter coli* han surgido como patógenos humanos comunes; causan principalmente enteritis y en ocasiones infección sistémica; ambas producen infecciones clínicamente indistinguibles y, por lo general, los laboratorios no pueden diferenciar entre las dos especies. Entre 5 y 10% de las infecciones informadas como causadas por el *C. jejuni* tal vez se deben al *C. coli*. Estas bacterias son al menos tan comunes como las salmonelas y las shigelas como causa de diarrea; en EUA se estima que ocurren dos millones de casos cada año.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

C. jejuni y otras campilobacterias son bacilos gramnegativos con forma de coma, S o "ala de gaviota" (figura 18-2). Están dotados de motilidad con un solo flagelo polar, y no forman esporas.

B. Cultivo

Las características del cultivo son muy importantes para el aislamiento y la identificación del *C. jejuni* y otras campilobacterias. Se requieren medios selectivos, y la incubación debe efectuarse en atmósfera con O_2 reducido (5% O_2) y adición de CO_2 (10% CO_2). Una manera relativamente sencilla de producir la atmósfera de incubación es colocar las placas en copiadore de incubación anaeróbica sin el catalizador y producir el gas con un paquete generador disponible en el comercio o por intercambio gaseoso. La incubación de las placas primarias debe ser a 42 °C; aunque el *C. jejuni* crece bien entre 36 a 37 °C, la incubación a 42 °C impide el crecimiento de la mayor parte de las otras bacterias presentes en las heces y simplifica así la identificación del *C. jejuni*. Están en amplio uso varios medios selectivos. El medio de Skirrow contiene vancomicina, polimixina B y trimetoprim para inhibir el crecimiento de otras bacterias. Otros medios selectivos también contienen antimicrobianos, incluyendo cefalotina y cefopera-

zona, y compuestos inhibidores; y debido a su contenido de una cefalosporina, *C. fetus* y muchas otras especies campilobacterias no crecerán en estos medios. Los medios selectivos son adecuados para el aislamiento del *C. jejuni* a 42 °C; cuando el medio de Skirrow se incuba entre 36 a 37 °C, se pueden aislar otras campilobacterias. Las colonias tienden a ser incoloras o de color gris. Pueden ser acuosas y extenderse, o redondas y convexas, y ambos tipos de colonias pueden aparecer sobre las placas de agar.

C. Características del crecimiento

Dados los medios selectivos y las condiciones de incubación para crecimiento, habitualmente todo lo que se requiere para la identificación es un conjunto pequeño de pruebas. *C. jejuni*



Figura 18-2. A. *Campylobacter jejuni* crecido en medio sólido, se observan bacilos gramnegativos en forma de "coma" o "ala de gaviota". B. Campilobacterias (flechas pequeñas) en el hemocultivo de un paciente; también se observa un gran número de eritrocitos (flecha grande).

ne y otras campilobacterias patógenas para los humanos son oxidasas y catalasa-positivas. Las campilobacterias no oxidan ni fermentan los carbohidratos. Los frotis teñidos con tinción de Gram muestran la morfología característica. Para la identificación subsecuente de la especie pueden emplearse reducción del nitrato, producción de sulfuro de hidrógeno, prueba de hipurato y susceptibilidad a los antimicrobianos.

Estructura antigénica y toxinas

Las campilobacterias poseen lipopolisacáridos con actividad endotóxica. Se han encontrado toxinas extracelulares citopáticas y enterotoxinas, pero aún no está bien definido el significado de las toxinas en la enfermedad humana.

Patogenia y patología

La infección se contrae por vía oral a partir de alimentos, bebidas, contacto con animales infectados o productos animales. El *C. jejuni* es susceptible al ácido gástrico y habitualmente es necesario ingerir alrededor de 10^8 microorganismos para producir la infección. Este inóculo es similar al requerido para la infección por salmonela y shigela, pero menor del necesario para infección por vibriones. Los microorganismos se multiplican en el intestino delgado, invaden el epitelio y producen inflamación que da lugar a la aparición de leucocitos y eritrocitos en las heces. En ocasiones invade el torrente sanguíneo y se desarrolla un cuadro clínico de fiebre entérica. La invasión local de los tejidos, aunada a la actividad tóxica, parece causar la enteritis.

Datos clínicos

Las manifestaciones clínicas son: inicio agudo de dolor abdominal tipo cólico, diarrea profusa que puede ser macroscópicamente sanguinolenta, cefalea, malestar y fiebre. En general, la enfermedad es autolimitada a un periodo de 5 a 8 días, pero en ocasiones se prolonga. Los aislamientos de *C. jejuni* casi siempre son susceptibles a la eritromicina y el tratamiento acorta el periodo de eliminación fecal de las bacterias. La mayor parte de los casos se resuelve sin tratamiento con antimicrobianos.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

La muestra habitual es una evacuación diarreica. En otros tipos de muestras las campilobacterias habitualmente son hallazgos incidentales o se encuentran durante los brotes de la enfermedad.

B. Frotis

Los frotis de heces teñidos con tinción de Gram pueden mostrar bacilos típicos con forma de "ala de gaviota". El examen microscópico en campo oscuro o con microscopio de contraste de fases puede mostrar el característico movimiento de dardo de los microorganismos.

C. Cultivo

El cultivo sobre medio selectivo descrito antes es la prueba definitiva para el diagnóstico de enteritis por *C. jejuni*. Si se sospecha la presencia de otra especie de campilobacteria deben emplearse medios sin cefalotina e incubarse entre 36 a 37 °C.

Epidemiología y control

La enteritis por campilobacterias se parece a otras diarreas bacterianas agudas, en particular a la disenteria por shigela. Las fuentes de infección pueden ser alimentos (p. ej., leche, aves poco cocidas), contacto con animales o humanos infectados y sus excretas. Los brotes originados de una fuente común, por ejemplo, leche no pasteurizada, a veces requieren medidas de salud pública para su control.

2. CAMPYLOBACTER FETUS

El *Campylobacter fetus* subespecie *fetus* es un patógeno oportunista que causa infección sistémica en pacientes inmunodeficientes. A veces causa diarrea. Cuando el *C. fetus* causa bacteriemia e infección sistémica, la puerta de entrada puede ser el aparato gastrointestinal. El *C. fetus* posee en la superficie un arreglo de varias proteínas (proteína S, PM 100 000 a 149 000) que forman una estructura parecida a una cápsula que encierra al microorganismo (en comparación con las cápsulas de polisacárido de los patógenos como *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae*). En el modelo murino de la infección por *C. fetus*, la presencia de la proteína S capsular superficial se correlaciona con la capacidad de la bacteria para causar bacteriemia luego del la inoculación experimental por vía oral, y para causar la muerte en un gran porcentaje de los animales.

3. OTRAS CAMPILOBACTERIAS

Las especies campilobacterias diferentes del *C. jejuni* se encuentran con poca frecuencia. Esto se debe, en parte, a los métodos estándar utilizados para aislar campilobacterias a partir de muestras de heces; incubación a 42° C y utilización de un medio que contenga una cefalosporina. *Campylobacter lari* a menudo se encuentra en gaviotas y pocas veces causa diarrea en humanos; así como *Campylobacter upsaliensis* aislada de perros muy infrecuentemente causa diarrea en el hombre. *Helicobacter fennelliae* y *Helicobacter cinaedi* tienen la capacidad para causar ya sea enfermedad diarreica o enfermedad extraintestinal. Las especies arcobacter son patógenos entéricos muy poco comunes.

HELICOBACTER PYLORI

El *Helicobacter pylori* es un bacilo gramnegativo en forma de espiral. Se vincula con gastritis antral, úlcera duodenal (péptica) y tal vez con úlcera gástrica y carcinoma gástrico. Existen otras especies de helicobacter que infectan la mucosa gástrica, pero son extremadamente infrecuentes.

Mon

A. M.
H. p.
camp
moti

B. C.
La se
previ
facto
roflin
Los r
Skirr
medic
cos (p
colon

C. C.
El H.
fologi
te pro

Patol

El H. p.
no se
es rela
ciudad
(1.0 a
pylori
superf
bién p
además
vés del
ureasa
cional
en el m
telial, A
trico, n

En
dujo g
entre la
denal, i
mejora
Lo
sa infla
pero pr
como d
células
polisac
nio pro
dañar d
Hi
ción cró
observa
nucleare
cuencia
y puede
vez sea

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

H. pylori muestra muchas características en común con las campilobacterias. Posee múltiples flagelos en un polo y con motilidad activa.

B. Cultivo

La sensibilidad del cultivo puede limitarse por la terapéutica previa, contaminación con bacterias de otras mucosas y otros factores. Cuando se incuba a 37 °C en un ambiente microaerófilo, como para *C. jejuni*, el *H. pylori* crece en 3 a 6 días. Los medios para aislamiento primario incluyen el medio de Skirrow con vancomicina, polimixina B y trimetoprim; el medio de chocolate y otros medios selectivos con antibióticos (p. ej., vancomicina, ácido nalidíxico, anfotericina). Las colonias son translúcidas y de 1 a 2 mm de diámetro.

C. Características de crecimiento

El *H. pylori* es oxidasa y catalasa positivo, posee una morfología característica, está dotado de motilidad y es un fuerte productor de ureasa.

Patogenia y patología

El *H. pylori* crece óptimamente en pH de 6.0 a 7.0 y muere o no se desarrolla en el pH de la luz gástrica. El moco gástrico es relativamente impermeable al ácido y muestra gran capacidad amortiguadora. El moco del lado luminal tiene pH bajo (1.0 a 2.0); en el lado epitelial el pH es de casi 7.4. El *H. pylori* se sitúa profundamente en la capa mucosa cerca de la superficie epitelial donde el pH es fisiológico. *H. pylori* también produce una proteasa que modifica el moco gástrico y además disminuye la capacidad del ácido para difundir a través del moco. El *H. pylori* muestra una potente actividad de ureasa que genera la producción de amonio y amortigua adicionalmente el ácido. El *H. pylori* tiene mucha motilidad aun en el moco, y es capaz de desplazarse hacia la superficie epitelial. *H. pylori* yace sobre las células epiteliales de tipo gástrico, mas no en aquellas de tipo intestinal.

En voluntarios humanos, la ingestión de *H. pylori* produjo gastritis e hipoclorhidria. Hay una fuerte asociación entre la presencia de infección por *H. pylori* y la úlcera duodenal. La terapéutica antimicrobiana elimina al *H. pylori* y mejora la gastritis y la enfermedad por úlcera duodenal.

Los mecanismos mediante los cuales el *H. pylori* causa inflamación y daño a la mucosa no están bien definidos, pero probablemente incluyan factores tanto bacterianos como del huésped. La bacteria invade la superficie de las células epiteliales en grado limitado. Las toxinas y los lipopolisacáridos pueden dañar las células mucosas y el amonio producido por la actividad de la ureasa también puede dañar directamente las células.

Histológicamente, la gastritis se caracteriza por inflamación crónica y activa. Dentro del epitelio y la lámina propia se observan infiltrados con células polimorfonucleares y mononucleares. Las vacuolas en el interior de las células con frecuencia son muy evidentes. Es común la destrucción del epitelio y puede presentarse atrofia glandular. Por tanto, el *H. pylori* tal vez sea un factor de riesgo importante para el cáncer gástrico.

Datos clínicos

La infección aguda puede producir enfermedad del tracto gastrointestinal superior con náuseas y dolor; vómito y fiebre también se pueden presentar. Los síntomas agudos pueden durar menos de una semana o un periodo más largo de hasta dos semanas. Una vez colonizada la mucosa, la infección por *H. pylori* persiste durante años o quizá décadas, o incluso toda la vida. Alrededor de 90% de los pacientes con úlceras duodenales y 50 a 80% de los pacientes con úlceras gástricas padecen infección por *H. pylori*. Esta bacteria quizá también participa en la patogénesis del carcinoma y linfoma gástricos.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Se pueden emplear muestras de biopsia gástrica para el examen histológico o triturarse finamente en solución salina y usarse para cultivo. Se recolecta sangre para determinar los anticuerpos en suero.

B. Frotis

El diagnóstico de gastritis e infección por *H. pylori* se puede establecer histológicamente. Se requiere gastroscopia con biopsia. Las tinciones normales muestran gastritis, y las tinciones de Giemsa o argéntica especial pueden evidenciar microorganismos curvos o en espiral.

C. Cultivo

Como ya se indicó.

D. Anticuerpos

Se han desarrollado varios análisis para detectar los anticuerpos específicos en suero contra el *H. pylori*. Los anticuerpos séricos persisten aunque se erradique la infección por *H. pylori*, y por tanto la función de las pruebas de anticuerpos en el diagnóstico de infección activa o después del tratamiento es limitada.

E. Pruebas especiales

Se ha extendido mucho el empleo de pruebas rápidas en las muestras para la presunta identificación de *H. pylori* mediante la detección de la actividad de la ureasa. El material de biopsia gástrica puede colocarse sobre un medio que contenga urea y un indicador de color. En presencia de *H. pylori* la ureasa desdobla con rapidez la urea (1 o 2 días) y el cambio de pH resultante genera un cambio de color en el medio. También se pueden efectuar pruebas *in vivo* para la actividad de la ureasa. El paciente ingiere urea marcada con ¹³C o ¹⁴C. Si hay *H. pylori* la actividad de la ureasa genera CO₂ marcado que puede detectarse en el aire espirado por el paciente.

La detección del antígeno de *H. pylori* en muestras de materia fecal es un método apropiado para verificar la curación de pacientes con infección conocida por *H. pylori*, quienes ya se sometieron a tratamiento de erradicación.

Inmunidad

Los pacientes infectados con *H. pylori* desarrollan una respuesta de anticuerpo IgM a la infección. Subsecuentemente

se producen IgG e IgA que en las personas crónicamente infectadas persisten en títulos elevados tanto sistémicamente como en la mucosa. El tratamiento antimicrobiano de la infección por *H. pylori* bloquea la respuesta de anticuerpos; se estima que estos pacientes pueden sufrir infección repetida.

Tratamiento

El triple esquema de tratamiento con metronidazol y subsalicilato de bismuto o subcitratado de bismuto además de amoxicilina o tetraciclina durante 14 días erradica la infección por *H. pylori* en 70 a 95% de los pacientes. La administración de un agente antiácido durante 4 a 6 semanas facilita la cicatrización de la úlcera. Los inhibidores de la bomba de protones inhiben directamente *H. pylori* y parecen ser inhibidores potentes de la ureasa. El esquema de una semana con un inhibidor de la bomba de protones más, ya sea amoxicilina o claritromicina; o bien, amoxicilina más metronidazol, también resulta altamente efectivo.

Epidemiología y control

En menos de 20% de las personas menores de 30 años se encuentra *H. pylori* en la mucosa gástrica, pero su prevalencia aumenta a 40 a 60% en las personas mayores de 60 años, incluso en las personas asintomáticas. En los países en desarrollo, la prevalencia de la infección en adultos puede ser de 80% o mayor. Es probable la transmisión del *H. pylori* de una persona a otra dado al hacinamiento intrafamiliar de la infección. Las epidemias agudas de gastritis sugieren una fuente común del *H. pylori*.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Una mujer de 18 años de edad en un área rural de Bangladesh sufre de diarrea profusa (8 L/d). La paciente no tiene más síntomas que la diarrea y las manifestaciones de pérdida de líquido y electrólitos causada por la diarrea. La causa más probable de su diarrea es:
 - Campylobacter jejuni*
 - Escherichia coli* enterotoxigénica
 - Salmonella* Typhimurium
 - Vibrio cholerae*
 - Shigella dysenteriae*
- El factor microbiano al cual se debe la diarrea de la paciente (pregunta 1) es una toxina que:
 - Bloquea a EF-2
 - Produce mayores concentraciones intracelulares de cAMP
 - Rompe a SNARE
 - Bloquea el enlace dependiente de EF-1 de tRNA de aminoácido con los ribosomas
 - Rompe a VAMP
- Un hombre de 45 años de edad tiene una úlcera gástrica que se puede visualizar en una radiografía de abdomen con medio de contraste. Se toma una muestra de biopsia de la mucosa gástrica en el sitio de la úlcera. Se puede llegar a un diagnóstico presuntivo con más rapidez al inocular parte de la muestra en alguno de los siguientes medios:
 - Un medio usado para detectar ureasa incubado a 37 °C
 - Un medio que contiene vancomicina, polimixina B y trimetoprim incubado a 42 °C
 - Medio de agar de MacConkey incubado a 37 °C
 - Medio de tiósulfato-citrato-bilis-sucrosa incubado a 42 °C
 - Medio de agar con sangre incubado a 37 °C
- La edad y la región geográfica son factores principales en la prevalencia de colonización por el organismo importante de la pregunta 3. En los países en desarrollo, la prevalencia de colonización podría ser > 80% en adultos. En EUA, la prevalencia de colonización con el microorganismo que causa la enfermedad del paciente (pregunta 3) en adultos mayores de 60 años es:
 - 1 a 2%
 - 5 a 10%
 - 15 a 20%
 - 40 a 60%
 - 80 a 95%
- Un hombre de 59 años llega a la sala de urgencias en la tarde como resultado de hinchazón aguda y dolor en la pierna derecha. Temprano en la mañana había estado trabajando en un pequeño bote de pesca deportivo en un estuario en la costa del golfo de Texas. Mientras caminaba alrededor del bote en agua poco profunda, se arañó la pierna rompiéndose la piel en el sitio del dolor y la hinchazón actuales. El paciente no estaba usando botas. Cerca de una hora después de la lesión, el raspón se volvió rojo y doloroso. Se presentó la hinchazón. En tres horas, la pantorrilla se había inflamado de forma notable. La piel se puso roja y blanda. Había drenaje seroso desde la herida, que se había ulcerado y ahora estaba mucho más alargada. Cerca de la herida, se estaban formando ampollas (la más grande de unos 2.5 cm de diámetro). La causa más probable de esta urgencia médica es:
 - Staphylococcus aureus*
 - Streptococcus pyogenes*
 - Clostridium perfringens*
 - Escherichia coli*
 - Vibrio vulnificus*
- Un hombre de 63 años acudió a su restaurante favorito de mariscos en un pequeño pueblo en la orilla oriental de la costa del golfo de Texas. Comió dos docenas de ostras. Dos días después fue admitido al hospital como resultado del inicio abrupto de escalofríos, fiebre y mareo al ponerse de pie. (En la sala de urgencias, su presión fue de 60/40 mm Hg.) Mientras estaba en la sala de urgencias el paciente presentó lesiones cutáneas eritematosas. Estas evolucionaron de manera rápida a ampollas hemorrágicas, que luego formaron úlceras. El hombre toma un paquete de seis cervezas y media botella de whisky todos los días. Un microorganismo de interés principal para este paciente es:
 - Vibrio vulnificus*
 - Escherichia coli*
 - Salmonella* Typhi
 - Clostridium perfringens*
 - Streptococcus pyogenes* (estreptococos del grupo A)
- Durante los años de El Niño a mediados del decenio de 1990-99, las aguas de Puget Sound entre el estado de Washington y Columbia Británica se calentaron de forma considerable. Durante este tiempo, muchas personas que comieron almejas y ostras de estas aguas padecieron una enfermedad caracterizada por diarrea explosiva y calambres abdominales moderadamente

graves. La diarrea por lo general fue acuosa, pero en algunos pacientes fue sanguinolenta. La diarrea por lo común inició 24 h después de comer los mariscos. Los cultivos de heces produjeron un bacilo patógeno gramnegativo. El microorganismo de interés en este entorno es:

- A. *Escherichia coli* enterotoxigénica
- B. *Vibrio cholerae*
- C. *Escherichia coli* enterohemorrágica
- D. *Vibrio parahaemolyticus*
- E. *Shigella dysenteriae*

8. Una familia de cuatro personas ingirió una comida que incluyó pollo medio cocido. En tres días, tres miembros de la familia manifestaron una enfermedad caracterizada por fiebre, cefalea, mialgia y malestar general. Dos de los pacientes tuvieron diarrea concomitante y dolor abdominal. La tercera persona tuvo diarrea después de que se eliminaron los síntomas sistémicos. Los cultivos de heces produjeron *Campylobacter jejuni*. ¿Cuál de las siguientes condiciones de cultivo tiene más probabilidades de haber sido utilizada para aislar *Campylobacter jejuni*?

- A. Medio de tiosulfato-citrato-bilis-sucrosa incubado a 37 °C en oxígeno al 5% y CO₂ al 10%
- B. Medio selectivo de *Salmonella-Shigella* incubado a 37 °C en aire ambiental
- C. Agar de MacConkey y agar entérico de Hektoen incubados a 42 °C en oxígeno al 5% y CO₂ al 10%

- D. Agar de sangre de carnero al 5% incubado a 37 °C en aire ambiental

- E. Un medio que contiene vancomicina, polimixina B y trimetoprim incubado a 42 °C en oxígeno al 5% y CO₂ al 10%

9. En EUA, los funcionarios de salud pública suelen advertir a la gente que cocinen bien el pollo comprado en supermercados y tiendas. ¿Qué porcentaje de los pollos obtenidos de estas fuentes es probable que esté contaminado con *Campylobacter jejuni*?

- A. 1 a 5%
- B. 6 a 15%
- C. 15 a 30%
- D. 30 a 50%
- E. > 50%

10. Un niño de 10 años de edad estaba jugando en una corriente de movimiento lento cuando se cortó el pie con un objeto afusado. Tres días después fue llevado a la sala de urgencias como resultado de dolor e hinchazón en el sitio de la herida y supuración. La causa más probable de la infección es:

- A. *Vibrio vulnificus*
- B. *Escherichia coli*
- C. *Aeromonas hydrophila*
- D. *Proteus mirabilis*
- E. *Salmonella typhimurium*

Respuestas: 1 = D; 2 = B; 3 = A; 4 = D; 5 = E; 6 = A; 7 = D; 8 = E; 9 = E; 10 = C

REFERENCIAS

- Abbott SL: *Aeromonas*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Blaser MJ: *Helicobacter pylori* and related organisms. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Farmer JJ III, Janda JM, Birkhead K: *Vibrio*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 5th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Nachamkin I: *Campylobacter* and *Arcobacter*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Seas C, Gotuzzo E: *Vibrio cholerae*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Versalovic J, Fox JG: *Helicobacter*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.

Haemophilus, Bordetella, Brucella y Francisella

ESPECIES DE HAEMOPHILUS

Este es un grupo de bacterias gramnegativas pleomórficas, que requieren para su aislamiento un medio enriquecido, el cual suele contener sangre o sus derivados. El *Haemophilus influenzae* tipo b es un patógeno importante para el humano; el *Haemophilus ducreyi* es un patógeno que se transmite por vía sexual y causa el chancroide; otras especies de *Haemophilus* están entre la flora normal de las membranas mucosas y sólo en ocasiones causan enfermedad.

1. HAEMOPHILUS INFLUENZAE

El *Haemophilus influenzae* se encuentra sobre las mucosas del aparato respiratorio superior en humanos. Es causa importante de meningitis en niños y en ocasiones produce infecciones del aparato respiratorio en niños y adultos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

En muestras procedentes de infecciones agudas, los microorganismos son cocobacilos cortos (1.5 µm), que a veces se presentan en pares o cadenas cortas. En cultivo, la morfología depende de la edad y del medio. Después de 6 a 8 h en medio enriquecido, predominan las formas cocobacilares pequeñas. Después, hay bacilos alargados, bacterias lisas y formas muy pleomórficas.

En cultivos recientes (6 a 18 h) sobre medio enriquecido, los microorganismos poseen una cápsula definida. La cápsula es el antígeno que se usa para "tipificación" del *H. influenzae* (véase después).

B. Cultivo

En agar chocolate, después de 24 h de incubación, se presentan colonias planas, de color café grisáceo con diámetros de 1 a 2 mm. IsoVitaléX en los medios incrementa el crecimiento. *H. influenzae* no se desarrolla en agar de sangre de carnero, ex-

cepto alrededor de colonias de estafilococos ("fenómeno de satélite"). *H. haemolyticus* y *H. parahaemolyticus* son variantes de *H. influenzae* y *H. parainfluenzae*, respectivamente.

C. Características del crecimiento

La identificación de los microorganismos del grupo *Haemophilus* depende en parte de la demostración de la necesidad de ciertos factores de crecimiento denominados X y V. El factor X actúa fisiológicamente como hemina; el factor V puede ser sustituido por dinucleótido nicotinamida adenina (NAD, del inglés *nicotinamide adenine dinucleotide*) u otras coenzimas. Las colonias de estafilococos en agar de sangre de carnero causan la liberación de NAD, produciendo el fenómeno de crecimiento satélite. Los requerimientos de varias especies de *Haemophilus* para los factores X y V se muestran en el cuadro 19-1. La fermentación de carbohidratos es escasa e irregular.

D. Variación

Además de la variación morfológica, el *H. influenzae* muestra una notable tendencia a perder su cápsula y la especificidad relacionada con el tipo. Las colonias de variantes no encapsuladas carecen de iridiscencia.

E. Transformación

Bajo circunstancias experimentales apropiadas, el DNA extraído de un determinado tipo de *H. influenzae* es capaz

Cuadro 19-1. Características y requerimientos para el desarrollo de algunas especies de *Haemophilus* (X = hem; V = dinucleótido nicotinamida adenina)

Especies	Requerimientos		Hemólisis
	X	V	
<i>H. influenzae</i> (<i>H. aegyptius</i>)	+	+	-
<i>H. parainfluenzae</i>	-	+	-
<i>H. ducreyi</i>	+	-	-
<i>H. haemolyticus</i>	+	+	+
<i>H. parahaemolyticus</i>	-	+	+
<i>H. aphrophilus</i>	-	-	-

de transferir la especificidad de tipo a otras células (transformación). La resistencia a la ampicilina y al cloranfenicol se controlan por genes en plásmidos transferibles.

Estructura antigénica

El *H. influenzae* encapsulado contiene **polisacáridos capsulares** (PM > 150 000) de uno de seis tipos (a-f). El antígeno capsular de tipo b es un fosfato de polirribosarribitol (PRP; del inglés *polyribosarribitol phosphate*). El *H. influenzae* encapsulado se puede tipificar mediante aglutinación en placa, coagulación con estafilococos o aglutinación de partículas de látex cubiertas con anticuerpos específicos del tipo. Una prueba de tumefacción de la cápsula con antisero específico es análoga a la prueba *quellung* para neumococo. También puede efectuarse una tipificación comparable mediante inmunofluorescencia. La mayor parte de los microorganismos *H. influenzae* en la flora normal del aparato respiratorio superior no son encapsulados.

Los antígenos somáticos del *H. influenzae* contienen proteínas de la membrana externa. Los lipopolisacáridos (endotoxinas) comparten muchas estructuras con los de *Neisseria*.

Patogenia

El *H. influenzae* no produce exotoxina. El microorganismo no encapsulado es un miembro de la flora normal respiratoria general de los humanos. La cápsula es antifagocítica en ausencia de anticuerpos anticapsulares específicos. La cápsula de fosfato de polirribosa del *H. influenzae* tipo b es el principal factor de virulencia.

La tasa de portador en el aparato respiratorio superior para el *H. influenzae* tipo b es de 2 a 4%. La tasa de portador para *H. influenzae* no tipificable es 50 a 80% o mayor. El *H. influenzae* tipo b causa meningitis, neumonía y empiema, epiglotitis, celulitis, artritis séptica, y en ocasiones otras variantes de infección invasora. El *H. influenzae* no tipificable tiende a causar bronquitis crónica, otitis media, sinusitis y conjuntivitis después de la disrupción de los mecanismos normales de defensa del huésped. El estado de portador para los tipos encapsulados a y c-f es bajo (1 a 2%), y estos tipos capsulares pocas veces causan enfermedad. Aunque el tipo b puede provocar bronquitis crónica, otitis media, sinusitis y conjuntivitis, lo hace con mucha menor frecuencia que el *H. influenzae* no tipificable. De manera similar, el *H. influenzae* no tipificable sólo causa enfermedad invasora ocasionalmente (casi 5% de los casos).

La sangre de niños mayores de 3 a 5 años es bactericida para el *H. influenzae*, y las infecciones clínicas son menos frecuentes en estas personas. Sin embargo, 25% de los adultos en EUA carecen de anticuerpos bactericidas y la infección clínica ocurre con más frecuencia en adultos.

Datos clínicos

El *H. influenzae* tipo b entra por el aparato respiratorio. Puede haber una diseminación local con afección de los senos paranasales y del oído medio. El *H. influenzae* tipo b

y el neumococo son los dos agentes etiológicos más comunes de la otitis media bacteriana y la sinusitis aguda. Los microorganismos pueden llegar al torrente sanguíneo, que los transporta hasta las meninges o, con menor frecuencia, se pueden establecer en las articulaciones para producir artritis séptica. A pesar del uso de una vacuna conjugada, el *H. influenzae* era la causa más común de meningitis bacteriana en niños entre cinco meses y cinco años de edad en EUA. Desde el punto de vista clínico, recuerda otras variantes de meningitis de la infancia y el diagnóstico se basa en la demostración bacteriológica del microorganismo.

En ocasiones se desarrolla en lactantes una laringotraqueítis obstructiva mortal con inflamación de la epiglotis de color rojo cereza, que requiere traqueostomía o intubación inmediata como un procedimiento para salvarles la vida. La neumonía y la epiglotitis causadas por el *H. influenzae* pueden ser subsecuentes a infecciones del aparato respiratorio superior en niños pequeños y ancianos o en personas debilitadas. Los adultos a veces padecen bronquitis o neumonía causadas por el *H. influenzae*.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras consisten en exudado nasofaríngeo, pus, sangre y líquido cefalorraquídeo para frotis y cultivos.

B. Identificación directa

Se dispone de estuches ("kits") comerciales para la detección inmunaria de antígeno de *H. influenzae* en líquido cefalorraquídeo. Una prueba positiva indica que el líquido contiene concentraciones altas de polisacárido específico de *H. influenzae* tipo b. Estas pruebas de detección de antígenos por lo general no son más sensibles que una tinción de Gram y, por tanto, su uso es limitado.

C. Cultivo

Las muestras se incuban en agar chocolate enriquecido con IsoVital X hasta que aparecen las colonias típicas. El *H. influenzae* se diferencia de los bacilos gramnegativos semejantes por su requerimiento de factores X y V y por la ausencia de hemólisis sobre agar sangre (cuadro 19-1).

La pruebas para requerimiento de los factores X (hem) y V (dinucleótido nicotinamida adenina) pueden efectuarse de varias maneras. Las especies de *Haemophilus* que requieren factor de crecimiento V, crecen alrededor de las tiras de papel o de los discos que contienen factor V colocados sobre la superficie del agar, el cual se ha esterilizado en autoclave antes de añadir la sangre (el factor V es termolábil). Alternativamente, se puede colocar una tira que contenga factor X paralela a otra que contenga factor V sobre agar deficiente en estos nutrientes. El crecimiento de *Haemophilus* en la parte situada entre las tiras indica requerimiento de ambos factores. Una mejor prueba para el requerimiento de factor X se basa en la incapacidad del *H. influenzae* (y de otras especies de *Haemophilus*) para sintetizar hem a partir del ácido δ -aminolevulínico. El inóculo se incuba con ácido δ -aminolevulínico. Los microorganismos *Haemophilus* que no requieren factor X sintetizan porfobilinógeno, porfirinas, protoporfirina IX y hem. La presencia de fluorescencia roja bajo luz

ultravioleta (aproximadamente 360 nm) indica presencia de porfirinas y prueba positiva. Las especies de *Haemophilus* que sintetizan porfirinas (y por tanto hem) no son *H. influenzae* (cuadro 19-1).

Inmunidad

Los lactantes menores de tres meses pueden presentar anticuerpos séricos transmitidos de su madre. Durante este tiempo, la infección por *H. influenzae* es poco común, pero después se pierden los anticuerpos. Con frecuencia, los niños contraen infecciones por *H. influenzae* que son asintomáticas, pero pueden presentarse en la variedad de enfermedad respiratoria o meningitis. El *H. influenzae* ha sido la causa más común de meningitis bacteriana en niños de cinco meses a cinco años de edad. Alrededor de los 3 a 5 años de edad, muchos niños no inmunizados han adquirido de manera natural anticuerpos antiPRP que promueven la acción bactericida dependiente del complemento y la fagocitosis. La inmunización en niños con vacuna conjugada de *H. influenzae* tipo b induce los mismos anticuerpos.

Existe una correlación entre la presencia de anticuerpos bactericidas y la resistencia a infecciones graves por *H. influenzae* tipo b. Sin embargo, no se sabe si estos anticuerpos explican por sí solos la inmunidad. En adultos con estos anticuerpos se pueden desarrollar neumonía o artritis producidas por el *H. influenzae*.

Tratamiento

La tasa de mortalidad por meningitis por *H. influenzae* sin tratamiento puede ser de hasta 90%. Muchas cepas *H. influenzae* tipo b son susceptibles a la ampicilina, pero hasta 25% producen β -lactamasa bajo control de un plásmido transferible y por tanto son resistentes. Prácticamente todas las cepas son susceptibles a las nuevas cefalosporinas. La cefotaxima por vía intravenosa da excelentes resultados. El diagnóstico oportuno y la terapéutica antimicrobiana son indispensables para reducir al mínimo secuelas neurológicas y daño intelectual. Entre las complicaciones tardías de la meningitis por influenza la más importante es el desarrollo de una acumulación localizada de líquido subdural que requiere drenaje quirúrgico.

Epidemiología, prevención y control

El *H. influenzae* tipo b encapsulado se transmite de una persona a otra por la vía respiratoria. La enfermedad por *H. influenzae* tipo b se puede prevenir con la administración a los niños de vacuna conjugada *haemophilus b*. Los niños de dos meses de edad o mayores pueden inmunizarse con vacuna de *H. influenzae* tipo b conjugada con uno de dos portadores (HbOC con la proteína portadora CRM₁₉₇ de una *Corynebacterium diphtheriae* mutante en la proteína de la toxina o con el complejo de la membrana externa de *Neisseria meningitidis*) con dosis de refuerzo apropiadas según las recomendaciones estándar. A los niños de 15 meses de edad o mayores se les puede administrar vacuna conju-

gada *H. influenzae* tipo b con toxoide diftérico (no inmunógeno para niños de corta edad). El uso extendido de la vacuna de *H. influenzae* tipo b redujo notablemente la incidencia de meningitis por este microorganismo en los niños en más de 95%. La vacuna reduce la tasa de portadores de *H. influenzae* tipo b.

El contacto con pacientes afectados de infección clínica por *H. influenzae* representa poco riesgo para los adultos, pero es sin duda un riesgo para hermanos y otros niños menores de cuatro años de edad no inmunizados quienes están en estrecho contacto con el paciente. Para estos niños se recomienda profilaxis con rifampicina.

2. HAEMOPHILUS AEGYPTIUS

Este microorganismo antes se denominó bacilo de Koch-Weeks; a veces también se le denomina *H. influenzae* biotipo III. Es muy parecido al *H. influenzae* y se le ha asociado con una variedad muy transmisible de conjuntivitis. El *H. aegyptius* causa la fiebre purpúrica brasileña, una enfermedad de la infancia caracterizada por fiebre, púrpura, estado de choque y muerte.

3. HAEMOPHILUS APHROPHILUS

A veces se presenta en la endocarditis infecciosa y en la neumonía. Se encuentra en la flora normal de la boca y el aparato respiratorio. Está relacionado con el *Actinobacillus* (*Haemophilus*) *actinomycetemcomitans*.

4. HAEMOPHILUS DUCREYI

El *Haemophilus ducreyi* es la causa del chancroide (chancro blando), una enfermedad transmitida por contacto sexual. Consiste en una úlcera de bordes irregulares sobre los genitales, con inflamación notable y dolor. Los ganglios linfáticos regionales están hipertrofiados y dolorosos. La enfermedad debe diferenciarse de sífilis, infección por herpes simple y linfogranuloma venéreo.

Los pequeños bacilos gramnegativos se presentan formando cordones en las lesiones, por lo general junto con otros microorganismos piógenos. El *H. ducreyi* requiere factor X, pero no factor V. Crece mejor cuando se recoge un raspado de la base de la úlcera y se coloca sobre agar chocolate que contiene 1% de IsoVital X y vancomicina. 3 µg/mL, y se incuba en 10% de CO₂ a 33 °C. Después de la infección chancroide no hay inmunidad permanente. El tratamiento intramuscular con ceftriaxona, u oral con trimetoprim-sulfametoxazol o eritromicina, casi siempre produce cicatrización en dos semanas.

5. OTRAS ESPECIES HAEMOPHILUS

Haemophilus haemoglobinophilus requiere factor X pero no factor V y es patógeno para perros, pero no para humanos. El *Haemophilus haemolyticus* es el microorganismo del grupo más notablemente hemolítico *in vitro*; se presen-

ta en la nasofaringe normal y relacionado con raras infecciones del aparato respiratorio superior o de gravedad moderada en niños. *Haemophilus parainfluenzae* se parece a *H. influenzae* y es un habitante normal del aparato respiratorio humano; ocasionalmente se le encuentra en la endocarditis y en la uretritis infecciosas. *H. suis* se parece a *H. influenzae* desde el punto de vista bacteriológico y actúa sinérgicamente con el virus de la influenza porcina para producir la enfermedad en cerdos.

BORDETELLAS

Existen varias especies de *Bordetella*. La *Bordetella pertussis*, un patógeno de humanos muy transmisible e importante, causa tos ferina (*pertussis*). *Bordetella parapertussis* es capaz de causar una enfermedad similar. *Bordetella bronchiseptica* (*Bordetella bronchicantis*) causa enfermedad en animales como la tos de perro y catarro en conejos, y sólo en ocasiones provoca una enfermedad parecida a la tos ferina en humanos. *Bordetella avium* causa moquillo en el pavo y no se sabe que infecte humanos. Otras especies de *Bordetella* se han aislado de humanos en ocasiones muy esporádicas. Las *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. bronchiseptica* están muy relacionadas con homología del DNA de 72 a 94% y diferencias muy limitadas en el análisis enzimático de *locus* múltiples; las tres especies pueden considerarse tres subespecies dentro de una misma especie. La *B. avium* es una especie distinta.

1. BORDETELLA PERTUSSIS

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los microorganismos son cocobacilos diminutos y gram-negativos, similares al *H. influenzae*. Teñidos con azul de toluidina pueden demostrarse gránulos metacromáticos. Poseen una cápsula.

B. Cultivo

El aislamiento primario de la *B. pertussis* requiere medio enriquecido. Se puede emplear medio Bordet-Gengou (agar papa-sangre-glicerol) con penicilina G, 0.5 µg/mL; sin embargo, es preferible un medio que contenga carbón, similar al empleado para la *Legionella pneumophila*. Las placas se incuban entre 35 a 37 °C durante 3 a 7 días en ambiente húmedo (p. ej., bolsa de plástico sellada). Los bacilos gram-negativos pequeños y delicados se identifican mediante tinción inmunofluorescente. La *B. pertussis* carece de motilidad.

C. Características del crecimiento

El microorganismo es aerobio estricto, forma ácido pero no gas a partir de glucosa y lactosa. No requiere factores X y V en el subcultivo. La hemólisis en medio de cultivo que contenga sangre se asocia con una *B. pertussis* virulenta.

D. Variación

Cuando la *B. pertussis* se aísla de pacientes y se cultiva sobre medio enriquecido se encuentra en fase virulenta hemolítica y productora de toxina pertussis. Existen dos mecanismos

para que la *B. pertussis* cambie a variedades avirulentas no hemolíticas y no productoras de toxina. La modulación fenotípica reversible tiene lugar cuando *B. pertussis* crece bajo ciertas condiciones ambientales (p. ej., 28 °C en comparación con 37 °C, presencia de MgSO₄, etc.). La variación de fase reversible sigue a una mutación poco frecuente en el *locus* genético que controla la expresión de los factores de virulencia (véase después). Es posible que estos mecanismos desempeñen una función en el proceso infeccioso, pero aún no se ha demostrado clínicamente.

Estructura antigénica, patogenia y patología

La *B. pertussis* produce varios factores que participan en la patogenia de la enfermedad. Un *locus* en el cromosoma de *B. pertussis* actúa como un regulador central de los genes de virulencia. Este *locus* tiene dos genes de virulencia de *Bordetella*, *bvgA* y *bvgS*. Los productos de los *locus* A y S son similares a los de sistemas reguladores de dos componentes conocidos. *bvgS* responde a señales ambientales, mientras que *bvgA* es un activador transcripcional de los genes de virulencia. La hemaglutinina filamentososa media la adhesión a las células epiteliales ciliadas. La toxina pertussis promueve linfocitosis, sensibilización a histamina e incremento de la secreción de insulina y posee actividad ADP-ribosilante, con una estructura A/B y mecanismo de acción similar al de la toxina del cólera. La hemaglutinina filamentososa y la toxina pertussis son proteínas secretadas que se encuentran fuera de las células de la *B. pertussis*. La toxina adenililciclase, la toxina demonecrosante y la hemolisina también están reguladas por el sistema *bvg*. La citotoxina traqueal inhibe la síntesis del DNA en las células ciliadas y no está regulada por el *bvg*. Los *pilis* probablemente desempeñan una función en la adherencia de la bacteria a células epiteliales ciliadas del aparato respiratorio superior. Los lipopolisacáridos de la pared celular también pueden ser importantes en el daño causado a las células epiteliales de las vías respiratorias superiores.

La *B. pertussis* sólo sobrevive periodos breves fuera del huésped humano. No hay vectores. La transmisión es principalmente por vía respiratoria a partir de los casos iniciales y posiblemente a través de portadores. Los microorganismos se adhieren a la superficie epitelial de tráquea y bronquios, donde se multiplican con rapidez e interfieren con la acción de los cilios. No hay invasión sanguínea. La bacteria libera toxinas y sustancias que irritan la superficie de las células y producen tos y linfocitosis notable. Más tarde pueden necrosarse partes del epitelio y presentarse infiltración de polimorfonucleares con inflamación peribronquial y neumonía intersticial. Invasores secundarios como los estafilococos o el *H. influenzae* pueden producir neumonía bacteriana. La obstrucción de los bronquios de menor calibre con tapones mucosos produce atelectasia y disminuye la oxigenación de la sangre. Esto tal vez contribuya a las frecuentes convulsiones en lactantes con tos ferina.

Datos clínicos

Después de un periodo de incubación de alrededor de dos semanas, se desarrolla la "etapa catarral" con tos leve y es-

tornados. En esta etapa se dispersan por el ambiente gran número de microorganismos en un aerosol de la secreción de las vías respiratorias y el paciente es muy infectante, pero en apariencia no está tan enfermo. Durante la etapa "paroxística", la tos adquiere carácter explosivo y aparece el característico "estridor" durante la inhalación. Esto conduce a un rápido agotamiento y puede acompañarse de vómito, cianosis y convulsiones. El "estridor" y las complicaciones importantes predominan en los lactantes; la tos paroxística afecta a niños de mayor edad y a los adultos. La cifra de leucocitos es grande (16 000 a 30 000/ μ L), con linfocitosis absoluta. La convalecencia es lenta. *B. pertussis* es una causa común de tos prolongada (4 a 6 semanas) en adultos. Pocas veces, la tos ferina va seguida por encefalitis, una complicación grave y potencialmente mortal. Varios tipos de adenovirus y la *Chlamydia pneumoniae* pueden producir un cuadro clínico parecido al causado por la *B. pertussis*.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

La muestra preferida es el lavado nasal con solución salina. A veces también se emplean frotis nasofaríngeos o gotas expelidas con la tos sobre una "placa tusida" colocada frente a la boca del paciente durante el acceso de tos, pero no son tan buenas como el lavado nasal con solución salina.

B. Prueba directa con anticuerpos fluorescentes (AF)

El reactivo AF se puede usar para examinar muestras del exudado nasofaríngeo; sin embargo, pueden obtenerse resultados falsos positivos y falsos negativos; la sensibilidad es de casi 50%. La prueba AF es más útil para identificar la *B. pertussis* después de cultivo sobre medio sólido.

C. Cultivo

El líquido salino del lavado nasal se cultiva sobre medio de agar sólido (véase antes). Los antibióticos en el medio tienden a inhibir a otros miembros de la flora respiratoria, pero permiten crecer a la *B. pertussis*. Los microorganismos pueden identificarse mediante tinción inmunofluorescente o por aglutinación sobre una laminilla con antisuero específico.

D. Reacción en cadena de polimerasa

La PCR es el método más sensible para diagnosticar tos ferina. Se deben incluir los cebadores tanto para *B. pertussis* como para *B. parapertussis*. Cuando se encuentra disponible, la prueba PCR debe reemplazar al cultivo y a las pruebas directas de anticuerpos fluorescentes.

E. Serología

Las pruebas serológicas tienen escaso valor diagnóstico en los pacientes debido a que los anticuerpos aglutinantes o precipitantes no se incrementan hasta después de tres semanas de la enfermedad. Una sola muestra sérica con una titulación alta de anticuerpos puede ser de gran utilidad para diagnosticar la causa de una tos prolongada, es decir, de varias semanas de duración.

Inmunidad

La recuperación de la tos ferina o inmunización va seguida de inmunidad. Pueden presentarse segundas infecciones, pero son leves; reinfecciones que se presentan años después en los adultos pueden ser graves. Es probable que la primera defensa contra la infección por *B. pertussis* sea el anticuerpo que impide la adhesión de la bacteria a los cilios del epitelio respiratorio.

Tratamiento

La *B. pertussis* es susceptible a varios antimicrobianos *in vitro*. La administración de eritromicina durante la etapa catarral de la enfermedad promueve la eliminación de los microorganismos y puede tener valor profiláctico. El tratamiento después de iniciada la fase paroxística rara vez altera el curso clínico. La inhalación de oxígeno y sedantes puede evitar daño cerebral por hipoxia.

Prevención

Todo niño debe recibir tres inyecciones de vacuna *pertussis* durante el primer año de vida, seguidas de dos refuerzos para dar un total de cinco dosis. Existen múltiples vacunas *pertussis* acelulares autorizadas en EUA y muchos otros países; se recomienda el empleo de estas vacunas. Las vacunas acelulares contienen de 1 a 5 antígenos. La vacuna con 3 a 5 antígenos induce una mejor respuesta inmune que aquellas con sólo 1 o 2 antígenos. Puesto que las diversas vacunas disponibles contienen diferentes antígenos, se debe utilizar el mismo producto de la vacuna inicial en las dosis subsecuentes. La vacuna *pertussis* suele administrarse en combinación con los toxoides diftérico y tetánico (DPT).

La administración profiláctica de eritromicina durante cinco días también puede tener efectos benéficos en los lactantes no inmunizados o en los adultos sujetos a exposición intensa.

Epidemiología y control

La tos ferina es endémica en las regiones más pobladas del mundo y también pueden presentarse epidemias intermitentes. Por lo general, la fuente de infección es un paciente en la etapa catarral inicial de la enfermedad. La transmisión es alta, varía de 30 a 90%. La mayor parte de los casos acontece en niños menores de cinco años; muchas muertes tienen lugar en el primer año de vida.

El control de la tos ferina se basa principalmente en la inmunización activa adecuada de todos los lactantes.

2. BORDETELLA PARAPERTUSSIS

Este microorganismo puede producir una enfermedad similar a la tos ferina. Con frecuencia, la infección es subclínica. La *Bordetella parapertussis* crece con mayor rapidez que la *B. pertussis* típica y produce colonias de mayor ta-

maño. También crece sobre agar sangre. La *B. paraptensis* posee una copia del gen de la toxina *pertussis*.

3. BORDETELLA BRONCHISEPTICA

Bordetella bronchiseptica es un bacilo gramnegativo pequeño que habita en las vías respiratorias de los caninos, en los cuales puede causar "tos de perro" y neumonitis. Causa catarro nasal en conejos y rinitis atrófica en cerdos. Muy pocas veces es responsable de infecciones crónicas del tracto respiratorio en humanos. Crece sobre medio agar sangre. La *B. bronchiseptica* posee una copia silenciosa del gen de la toxina *pertussis*.

BRUCELLAS

Las *Brucellas* son parásitos obligados de animales y humanos; típicamente, su localización es intracelular. Son relativamente inactivas desde el punto de vista metabólico. En general, la *Brucella melitensis* infecta cabras; la *Brucella suis*, cerdos; la *Brucella abortus*, ganado bovino; y la *Brucella canis*, perros. Otras especies sólo se encuentran en animales. Aunque todas éstas se denominan especies, estudios de homología del DNA demuestran que sólo existe una especie en el género, la *Brucella melitensis*, con múltiples biovariedades. La enfermedad en humanos, la brucelosis (fiebre ondulante, fiebre de Malta), se caracteriza por una fase bacteriémica aguda seguida por una etapa crónica que puede prolongarse durante años y afectar muchos tejidos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

En los cultivos jóvenes el aspecto varía desde cocos hasta bacilos de 1.2 µm de longitud, con predominio de formas cocobacilares cortas. Son gramnegativos, pero con frecuencia se tiñen de manera irregular y son aerobios, carecen de motilidad y no forman esporas.

B. Cultivo

Colonias pequeñas, convexas y lisas aparecen sobre el medio enriquecido en 2 a 5 días.

C. Características del crecimiento

Las brucelas se adaptan al hábitat intracelular y sus requerimientos nutricionales son complejos. Se han cultivado algunas cepas sobre medios definidos, con aminoácidos, vitaminas, sales y glucosa. Las muestras frescas procedentes de animales o humanos generalmente se inoculan sobre medio de cultivo agar de tripticasa-soya o sangre. La *B. abortus* requiere 5 a 10% de CO₂ para el crecimiento, en tanto que las otras tres especies crecen en aire.

Las brucelas utilizan carbohidratos, pero no producen ácidos y gas en cantidad suficiente para clasificarlas según este criterio. Las cuatro especies que infectan al ser humano producen catalasa y oxidasa. Muchas cepas producen sulfuro de hidrógeno y reducen los nitratos a nitritos.

Las brucelas son moderadamente sensibles al calor y la acidez. En la leche se les puede matar mediante pasteurización.

D. Variación

El microorganismo virulento característico forma colonias lisas y transparentes; durante el cultivo tienden a cambiar a la forma rugosa, que es avirulenta.

El suero de los animales susceptibles contiene una globulina y una lipoproteína que suprimen el crecimiento de los tipos avirulentos rugosos y favorecen el crecimiento de los tipos virulentos. Las especies animales resistentes carecen de estos factores, de modo que puede ocurrir una mutación rápida hacia la avirulencia. La D-Alanina muestra un efecto similar *in vitro*.

Estructura antigénica

Es posible diferenciar a las especies o biovariedades de *Brucella* por su característica sensibilidad a colorantes y su producción de H₂S. Pocos laboratorios realizan estas pruebas y las brucelas rara vez se clasifican en las especies comunes. Debido a que las brucelas son peligrosas en el laboratorio, las pruebas para clasificarlas se deben llevar a cabo sólo en laboratorios de salud pública de referencia mediante gabinetes de seguridad biológica.

Patogenia y patología

Aunque cada especie de *Brucella* tiene un huésped preferido, pero todas pueden infectar una amplia variedad de animales, incluso humanos.

Las vías comunes de infección en humanos son el intestino (ingestión de leche contaminada), mucosas (gotas) y piel (contacto con tejidos de animales infectados). El queso elaborado con leche de cabra no pasteurizada es un vehículo particularmente común para brucelosis. Los microorganismos avanzan desde la puerta de ingreso, a través de los conductos linfáticos y ganglios linfáticos regionales, hasta el conducto torácico y la corriente sanguínea, la cual los distribuye a los órganos parenquimatosos. En tejido linfático, hígado, bazo, médula ósea y otras partes del sistema reticuloendotelial se pueden desarrollar nódulos granulomatosos en forma de abscesos. En estas lesiones, las brucelas son principalmente intracelulares. En ocasiones también se pueden presentar osteomielitis, meningitis o colecistitis. En la brucelosis la principal reacción histológica consiste en proliferación de células mononucleares, exudación de fibrina, necrosis por coagulación y fibrosis. Los granulomas constan de células epiteloides y células gigantes con necrosis central y fibrosis periférica.

Las brucelas que infectan humanos muestran diferencias aparentes en patogenicidad. La *B. abortus* generalmente causa enfermedad leve sin complicaciones supurativas; se observan granulomas no caseosos en el sistema reticuloendotelial. La *B. canis* también causa enfermedad leve. La infección con *B. suis* tiende a ser crónica con lesiones supurativas; pueden aparecer granulomas caseosos. La infección con *B. melitensis* es más aguda y grave.

Las personas con brucelosis activa reaccionan de manera más intensa (fiebre, mialgia) que las personas normales

a una inyección de endotoxina de brucela. Por tanto, la sensibilidad a esta endotoxina puede desempeñar una función en la patogenia.

La placenta y las membranas fetales de bovinos, cerdos, ovejas y cabras contienen eritritol, un factor de crecimiento para brucelas. En esas especies la proliferación de microorganismos en las hembras embarazadas conduce a placentitis y aborto. En la placenta humana no hay eritritol, y en humanos la infección por brucelas no produce aborto.

Datos clínicos

El periodo de incubación es de 1 a 6 semanas. El inicio es insidioso con malestar, fiebre, dolor y diaforesis. La fiebre, en general, se eleva por la tarde; desciende durante la noche y este descenso se acompaña de diaforesis profusa. Puede haber síntomas gastrointestinales y nerviosos. Los ganglios linfáticos se hipertrofian y el bazo es palpable. La hepatitis a veces se acompaña de ictericia. El dolor profundo y los trastornos motores, particularmente en los cuerpos vertebrales, sugieren osteomielitis. Estos síntomas de brucelosis generalizada en general ceden en semanas o meses, aunque pueden persistir lesiones y síntomas localizados.

Después de la infección inicial a veces se desarrolla una etapa crónica caracterizada por debilidad, mialgias y dolor, fiebre de poca intensidad, nerviosismo y otras manifestaciones inespecíficas compatibles con síntomas psico-neuróticos. En esta etapa no se pueden aislar brucelas del paciente, pero a veces aumentan los títulos de aglutininas. El diagnóstico de "brucelosis crónica" es difícil de establecer con certidumbre, a menos que se encuentren lesiones locales.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Se puede recolectar sangre y material de biopsia para cultivo (ganglios linfáticos, hueso, etc.), y suero para pruebas serológicas.

B. Cultivo

El agar de brucela se diseñó de manera específica para cultivar bacterias de especies de *Brucella*. El medio está muy enriquecido y, en forma reducida, se usa sobre todo en cultivos para bacterias anaerobias. En la forma oxigenada, en el medio crecen muy bien bacterias de especies de *Brucella*. Sin embargo, la infección con especies de *Brucella* suele pasar inadvertida cuando se preparan cultivos de muestras de un paciente, y el agar de brucela incubado en forma anaeróbica se usa pocas veces. Las bacterias de especies de *Brucella* crecen en medios comunes, entre otros, el de soja y triplicata con o sin sangre de carnero al 5%, el de infusión de cerebro y corazón y el de agar chocolate. En los medios de cultivo en sangre (véase después) se desarrollan con facilidad bacterias de especies de *Brucella*. El medio líquido utilizado para cultivar *Mycobacterium tuberculosis* también soporta el crecimiento de por lo menos algunas cepas. Los cultivos se deben incubar en 8 a 10% de CO₂ a 35 a 37 °C y se deben tener en observación durante tres semanas antes de descartar

ellos como negativos; los cultivos en medios líquidos se deben subcultivar a ciegas durante este tiempo.

La médula espinal y la sangre son los especímenes en los que suele aislarse la brucela. El método de elección para la médula espinal es usar tubos Isolator pediátricos, que no requieren centrifugación, con inoculación del contenido del tubo en medios sólidos. En los medios utilizados en sistemas de cultivo en sangre automatizados o semiautomatizados se desarrollan con facilidad brucelas, por lo común en una semana; sin embargo, se recomienda mantener los cultivos durante tres semanas. Los cultivos negativos para brucela no excluyen la enfermedad, porque estos organismos se pueden cultivar de pacientes sólo durante la fase aguda de la enfermedad o durante reaparición de actividad.

Después de algunos días de incubación en medios de agar, las brucelas forman colonias en la banda primaria que son de < 1 mm de diámetro. Éstas son no hemolíticas. La observación de diminutos coccobacilos gramnegativos que son catalasa-positivos y oxidasa-positivos hacen pensar en especies de *Brucella*. Todo el trabajo posterior en un cultivo de este tipo se debe hacer en un gabinete de seguridad biológica. Se debe inocular un cultivo inclinado de urea de Christensen y observarlo de manera frecuente. Una prueba positiva de ureasa es característica de especies de *Brucella*. *B. suis* y algunas cepas de *B. melitensis* producen una prueba positiva menos de 5 min después de inocular el cultivo inclinado; otras cepas toman de unas cuantas horas a 24 h. Las bacterias que satisfacen estos criterios deben ser puestas de forma rápida a consideración de un laboratorio de salud pública para su identificación presuntiva. Si se aíslan organismos que se asemejan a las brucelas, entonces se clasifican mediante producción de H₂S, inhibición de colorante y aglutinación mediante sueros absorbidos.

C. Serología

La concentración de anticuerpos IgM aumenta en la primera semana de la enfermedad aguda, alcanza un máximo a los tres meses, y puede persistir durante la enfermedad crónica. En un pequeño porcentaje de pacientes pueden permanecer elevadas concentraciones de IgM por dos años, incluso con antibióticoterapia apropiada. La concentración de anticuerpos IgG aumenta casi tres semanas después de iniciada la enfermedad aguda, alcanza un máximo a las 6 a 8 semanas, y permanece así durante la enfermedad crónica. La concentración de IgA es paralela a la concentración de IgG. Las pruebas serológicas generales a veces no detectan la infección con *B. canis*.

1. **Prueba de aglutinación:** Para ser confiable, la prueba de aglutinación debe efectuarse con antígenos de brucela lisa estandarizados, destruidos con calor y tratados con fenol. Los títulos de aglutinina IgG mayores de 1:80 indican infección activa. Las personas a quienes se ha inyectado vacuna contra el cólera pueden desarrollar títulos de aglutinación a brucela. Si la prueba de aglutinación en suero es negativa en pacientes con fuerte evidencia clínica de infección por brucela, se deben efectuar pruebas en busca de anticuerpos "bloqueados", los cuales a veces se detectan al añadir globulina antihumana a la mezcla antígeno-suero. Las aglutininas de la brucelosis muestran reacción cruzada con aglutininas de la tularemia, y en los sueros positivos deben

realizarse pruebas para ambas enfermedades: generalmente, el título para una enfermedad será mucho mayor que para la otra.

2. **Anticuerpos bloqueadores:** Son anticuerpos IgA que interfieren con la aglutinación por IgG e IgM y producen una prueba serológica negativa con diluciones séricas bajas (efecto prozona) aunque positiva en las diluciones más altas. Estos anticuerpos aparecen durante la etapa subaguda de la infección, tienden a persistir muchos años independientemente de la actividad de la infección y se detectan mediante el método de antilgobulina de Coombs.

Inmunidad

Con la infección se presenta una respuesta de anticuerpo y es probable que se produzca cierta resistencia a los ataques subsecuentes. Las fracciones inmunógenas de las paredes celulares de la brucela poseen un gran contenido de fosfolípidos; entre ocho aminoácidos predomina la lisina y no hay heptosas (lo cual establece la diferencia con las fracciones de endotoxina).

Tratamiento

Las brucelas tal vez sean susceptibles a tetraciclinas o ampicilina. Luego de pocos días de iniciado el tratamiento con estos fármacos puede haber alivio sintomático. Sin embargo, dada su localización intracelular no es fácil erradicar por completo los microorganismos del huésped. Para obtener mejores resultados el tratamiento debe ser prolongado. Debe considerarse el tratamiento combinado con estreptomycin y una tetraciclina.

Epidemiología, prevención y control

Las brucelas son patógenos de animales transmitidas a humanos por contacto accidental con heces, orina, leche y tejidos de animales infectados. Las fuentes más comunes de infección para humanos son leche no pasteurizada, productos lácteos, queso y contacto ocupacional (p. ej., granjeros, veterinarios, trabajadores de rastros) con animales infectados. Los quesos a base de leche sin pasteurizar de cabra son un vehículo muy común para la transmisión de brucelosis. En ocasiones puede ser importante la vía de transmisión por el aire. Debido al contacto ocupacional, la infección por brucela es mucho más frecuente en hombres. La mayor parte de las infecciones son asintomáticas (latentes).

La tasa de infección varía mucho en el ganado de diferentes países. Fuera de EUA, la infección es más prevalente. La erradicación de la brucelosis en el ganado bovino puede intentarse mediante el sacrificio de todo animal en el que se demuestre la infección, inmunización activa de los novillos con cepa 19 viva avirulenta, o combinando la prueba para comprobar la infección, la segregación y la inmunización. El ganado se examina por medio de pruebas de aglutinación.

La inmunización activa de los humanos contra la infección por brucela se encuentra en etapa experimental. El control se basa en limitar la propagación y en la posible erradicación de la infección en animales, pasteurización de la leche y productos lácteos, y la reducción de riesgos ocupacionales siempre que sea posible.

FRANCISELLA TULARENSIS Y TULAREMIA

La *F. tularensis* se encuentra en un vasto número de reservorios animales y es transmisible a los humanos mediante mordedura de artrópodos, contacto directo con tejidos de animales infectados, inhalación de material infectante en aerosol o ingestión de alimentos o agua contaminados. La enfermedad resultante, tularemia, es relativamente poco común en EUA. La presentación clínica depende de la ruta de infección.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

La *F. tularensis* es un bacilo pequeño gramnegativo y pleomórfico. Pocas veces se le observa en frotis de tejidos.

B. Muestras

Se recolecta sangre para pruebas serológicas.

C. Cultivo

El crecimiento no tiene lugar en la mayor parte de los medios bacteriológicos ordinarios, pero aparecen pequeñas colonias en 1 a 3 días sobre agar sangre glucosa cisteína o agar sangre glucosa incubados a 37 °C en condiciones aeróbicas. El microorganismo se identifica casi siempre por sus requerimientos de crecimiento y la tinción inmunofluorescente o aglutinación con antiseros específicos.

Precaución: para evitar la infección contraída en el laboratorio, la *Francisella* no debe cultivarse en instalaciones ordinarias de laboratorio clínico; sólo se debe efectuar cuando hay dispositivos apropiados de aislamiento que incluyan uso de gabinetes de seguridad biológica.

D. Serología

Todas las bacterias aisladas se identifican serológicamente porque poseen un antígeno polisacárido y una o más proteínas antigénicas que muestran reacción cruzada con brucelas. Sin embargo, hay dos categorías biológicas de cepas, denominados *Jellison* tipo A y tipo B. El tipo A sólo se encuentra en Norteamérica; es mortal para los conejos, produce enfermedad grave en humanos, fermenta el glicerol y contiene ureidasa de la citrulina. El tipo B carece de estas características bioquímicas; no es mortal para los conejos, produce enfermedad más leve en los humanos, y con frecuencia se aísla de roedores o de agua en Europa, Asia y Norteamérica. Otros biogrupos son de baja patogenicidad.

La respuesta común de anticuerpos consiste en aglutininas que se desarrollan 7 a 10 días después del inicio de la enfermedad.

Patogenia y datos clínicos

La *F. tularensis* es muy infectante: la penetración en la piel o mucosas, o la inhalación, de 50 microorganismos pueden producir la infección. Comúnmente, los microorganismos penetran a través de excoriaciones en la piel. En 2 a 6 días se desarrolla una pápula ulcerante inflamatoria. Los ganglios linfáticos regionales se hipertrofian y pueden sufrir necrosis, a veces drenan durante semanas. La inhalación de un aerosol de material infectante produce inflamación peribronquial y neumonitis localizada. Se puede desarrollar tularemia oculoglandular cuando se toca la conjuntiva con los dedos infectados o le caen gotas de material infectante. Las lesiones granulomatosas de color amarillo sobre los párpados pueden acompañarse de adenopatía preauricular. En todos los casos hay fiebre, malestar, cefalea y dolor en la región inflamada y los ganglios linfáticos regionales.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Los frotis, y los cultivos en general, no contribuyen al diagnóstico, éste se basa en estudios serológicos. Las muestras de suero recolectadas por pares con intervalos de dos semanas pueden mostrar aumento en los títulos de aglutinación. Un solo título sérico de 1:160 es muy sugerente si la historia y los datos físicos son compatibles con el diagnóstico. Puesto que en la prueba de aglutinación para tularemia los anticuerpos reactivos también reaccionan en la prueba para brucelosis, en los sueros positivos deben efectuarse ambas pruebas; el título de la enfermedad que afecta al paciente suele ser cuatro veces más alto que para la otra enfermedad. En la primera semana de la enfermedad una prueba cutánea (la disponibilidad del antígeno es limitada) puede dar una respuesta parecida a la de tuberculina, con frecuencia antes de que aumenten los títulos de aglutinación.

Tratamiento

La terapéutica con estreptomycin o gentamicina durante 10 días en general produce mejoría rápida. La tetraciclina también puede ser eficaz, pero las recaídas son más frecuentes. La ceftriaxona no es eficaz.

Prevención y control

Los humanos contraen tularemia por el manejo de conejos o rata almizclera infectados, o por mordedura de garrapata o tábanos infectados. Con menor frecuencia, la fuente es el agua o el piso contaminados, o el contacto con un perro o un gato que ha cazado un animal silvestre infectado. Lo importante de la prevención es evitar estos contactos. No se puede controlar la infección en los animales silvestres.

Las personas en riesgo excesivamente alto, en particular personal de laboratorio, pueden inmunizarse por administración de una cepa de *F. tularensis* viva atenuada disponible en el *US Army Medical Research Institute of Infectious Diseases*, Fort Detrick, Frederick, MD 21701. La vacuna se administra por múltiples punciones a través de la

piel; aunque no confiere protección completa, proporciona inmunidad parcial. En Rusia se ha administrado a gran escala una vacuna viva similar.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Se observó a mujer de 68 años de edad porque se había sentido con fiebre y había estado experimentando dolor cada vez más intenso e hinchazón en la rodilla izquierda durante las tres semanas anteriores. Cuatro años antes se le colocó una prótesis articular en la rodilla izquierda. En el examen la rodilla estaba hinchada y se podía detectar líquido. Se obtuvo un aspirado del líquido en el que había 15 000 células polimorfonucleares por mililitro. No se observaron organismos en la tinción de Gram. Se hizo un cultivo de rutina. En el cuarto día de incubación se observaron colonias incoloras de menos de 1 mm de diámetro en las placas de agar de sangre y chocolate. El organismo era un diminuto coccobacilo gramnegativo que resultó catalasa-positivo y oxidasa-positivo. Se inoculó un cultivo inclinado de urea y resultó positivo para actividad de ureasa después de la incubación durante la noche. ¿Cuál de los siguientes microorganismos era la causa probable de la infección de la paciente?
 - Haemophilus influenzae*
 - Haemophilus ducreyi*
 - Francisella tularensis*
 - Especies de *Brucella*
 - Staphylococcus aureus*
- Después que el cultivo se volvió positivo (pregunta 1), se obtuvieron más datos. Unas cuatro semanas antes del inicio del dolor de rodilla, la paciente había visitado a sus parientes en Israel y viajado a otros países en el área del Mediterráneo. Ella tenía una predilección particular por un producto alimenticio que fue el vehículo probable para su infección. Este fue:
 - Plátanos
 - Queso de cabra sin pasteurizar
 - Hamburguesa poco común
 - Jugo fresco de naranja
 - Té verde
- Un guarda de caza de 55 años de edad en Vermont encontró muerta una rata almizclera en la ribera de un río. Él tomó al animal, pensando que podría haber sido atrapado o recibido un disparo de manera ilegal; no fue así, y el guarda lo enterró. Cuatro días después, se le formó una úlcera dolorosa de 1.5 cm en el dedo índice de la mano derecha, una úlcera de 1 cm en la parte derecha de la frente y dolor en la axila derecha. En el examen físico también se encontró linfadenopatía axilar. La causa más probable de la infección de este paciente es:
 - Especies de *Brucella*
 - Rickettsia rickettsii*
 - Salmonella typhi*
 - Haemophilus ducreyi*
 - Francisella tularensis*
- Un pequeño de 18 meses de edad ha estado jugando con un niño en el que se desarrolla meningitis por *Haemophilus influenzae*. Los padres del pequeño consultan a su pediatra, quien les comenta que está segura de que el niño estará bien porque ha sido inmunizado por completo con la vacuna conjugada fosfato de polirribosa-proteína. ¿Por qué razón es necesario inmunizar a los infantes de dos meses a dos años de edad con vacunas conjugadas de polisacárido-proteína?

- A. La proteína conjugada es toxoide de difteria, y el objetivo es que el infante desarrolle inmunidad simultánea a la difteria
- B. Los infantes de dos meses a dos años de edad no responden inmunológicamente a las vacunas de polisacárido que no están conjugadas con una proteína
- C. La vacuna conjugada se diseña para niños más grandes y adultos, así como infantes.
- D. Los anticuerpos maternos (transplacentarios) contra *Haemophilus influenzae* desaparecieron de la circulación a los dos meses de edad
- E. Ninguna de las anteriores artificial
5. Un niño de 11 años de edad de Perú fue enviado al instituto de tumores cerebrales. Tres meses antes había experimentado cefalea y luego debilidad de avance lento en el lado derecho. En un examen del cerebro se observa una lesión masiva en el hemisferio izquierdo. Se pensó que tenía un tumor cerebral. No se realizó una incisión lumbar debido a la preocupación acerca de la presión intracraneal mayor y herniación del cerebro a través del *tentorium cerebelli*. En la intervención quirúrgica se encontró una lesión masiva en el hemisferio izquierdo. Los cortes congelados del tejido se hicieron mientras el paciente estaba en la sala de operación. La microscopía de las secciones mostró una reacción inflamatoria granulomatosa. No se observó ningún tumor. Con el tejido se preparó un cultivo para detectar *Mycobacterium tuberculosis*. Se utilizó un medio de caldo de Middlebrook 7H9. Seis días después de que se preparó el cultivo, la máquina automatizada detectó que el cultivo era positivo. Una tinción acidorresistente y una tinción de Gram dieron resultados negativos. Se realizaron subcultivos. Dos días después, se observaron colonias muy pequeñas en la placa de agar de sangre de carnero. El organismo fue un diminuto coccobacilo gramnegativo que fue catalasa-positivo y oxidasa-positivo. Mostró actividad de ureasa después de 2 h de incubación en un medio que contenía urea. Este niño tenía una infección con:
- A. Especies de *Brucella*
- B. *Mycobacterium tuberculosis*
- C. *Francisella tularensis*
- D. *Haemophilus influenzae*
- E. *Moraxella catarrhalis*
6. Un niño de tres años de edad se enferma de meningitis por *Haemophilus influenzae*. El tratamiento inicia con cefotaxima. ¿Por qué se usa esta cefalosporina de tercera generación en vez de ampicilina?
- A. Cerca de 80% de los organismos de *Haemophilus influenzae* tiene proteínas modificadas que se unen a la penicilina que confieren resistencia a ampicilina
- B. El fármaco de elección, trimetoprim-sulfametoxazol, no se puede usar porque el niño es alérgico a las sulfonamidas
- C. Es más fácil administrar cefotaxima intravenosa que ampicilina intravenosa
- D. Hay preocupación de que el niño desarrolle con rapidez alergia a la penicilina (ampicilina)
- E. Cerca de 20% de los organismos de *Haemophilus influenzae* tienen un plásmido que codifica la β lactamasa

Respuestas: 1 = D; 2 = B; 3 = E; 4 = B; 5 = A; 6 = E

REFERENCIAS

- Chu MC, Wyant RS: *Francisella* and *Brucella*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8^{ed}. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Cross JT Jr, Penn RL: *Francisella tularensis* (tularemia). In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Hand WL: *Haemophilus* species (including chancroid). In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Hewlett EL: *Bordetella*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Killian M: *Haemophilus*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8^{ed}. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Loefelholz MJ: *Bordetella*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Moxon ER, Murphy TF: *Haemophilus influenzae*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Young EJ: *Brucella* species. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.

Yersinia y Pasteurella

Los microorganismos estudiados en este capítulo son bacilos cortos, pleomórficos, gramnegativos, que pueden mostrar tinción bipolar. Son catalasa-positivos, oxidasa-negativos y anaerobios facultativos o microaerofílicos. Los huéspedes naturales de casi todos son animales, pero pueden producir enfermedades graves en humanos.

El género *Yersinia* incluye *Yersinia pestis*, causante de la peste bubónica; *Yersinia pseudotuberculosis* y *Yersinia enterocolitica*, son causantes de enfermedades diarreicas humanas y otras. Varias especies de *Pasteurella* son patógenas, sobre todo en animales, pero también pueden producir enfermedad en humanos.

YERSINIA PESTIS Y LA PESTE BUBÓNICA

La peste bubónica es una infección de roedores silvestres, transmitida de un roedor a otro y en ocasiones de roedores a humanos por mordedura o pulgas. Con frecuencia se produce infección grave, que en siglos pasados causaba pandemias de "muerte negra" causando millones de decesos.

Morfología e identificación

Y. pestis es un bacilo gramnegativo que muestra notable tinción bipolar con colorantes especiales (figura 20-1); carece de motilidad; crece como anaerobio facultativo sobre muchos medios bacteriológicos. El crecimiento es más rápido en medios que contienen sangre o líquidos de tejidos y se acelera a 30 °C. En cultivo sobre agar sangre a 37 °C, las colonias pueden ser muy pequeñas a las 24 h. Un inóculo virulento, derivado de tejido infectado, produce colonias de color gris y viscosas, pero después de subcultivarse en el laboratorio las colonias son irregulares y rugosas. El microorganismo tiene poca actividad bioquímica y ésta a veces es variable.

Estructura antigénica

Todas las yersinias poseen lipopolisacáridos que muestran actividad endotóxica cuando se liberan. Los microorganismos producen muchos antígenos y toxinas que actúan como

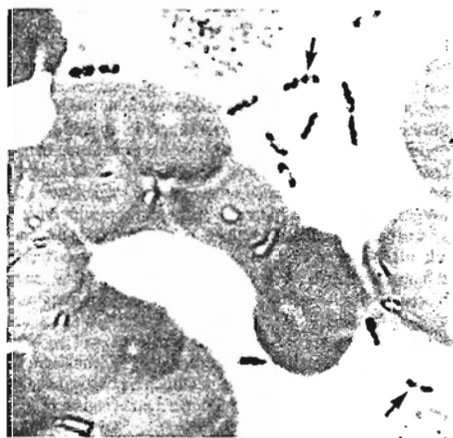


Figura 20-1. *Yersinia pestis* (flechas) en la sangre, tinción Wright-Giemsa. Algunos de los microorganismos de *Y. pestis* presentan tinción bipolar, que les confiere un aspecto parecido a pasadores para el cabello. (Cortesía de K Gage, Plague Section, Centers for Disease Control and Prevention, Ft. Collins, Colorado.)

factores de virulencia. La envoltura contiene una proteína (fracción I) producida principalmente a 37 °C que le confiere propiedades antifagocitarias. El tipo nativo virulento de la *Y. pestis* es portador de antígenos V-W, codificados por genes en plásmidos. Un plásmido de 72 kb es indispensable para la virulencia; las cepas avirulentas carecen de este plásmido. Algunas cepas avirulentas estables se han utilizado como vacunas vivas.

La *Y. pestis* produce una coagulasa a 28 °C (temperatura normal de la pulga), pero no a 35 °C (en climas muy cálidos la transmisión a través de las pulgas es escasa o nula).

Entre las diferentes exotoxinas producidas, una es mortal para ratones en cantidad de 1 µg. Esta proteína homogénea (PM 74 000) produce bloqueo β adrenérgico y es cardiopéptica en animales. Se desconoce su función en la infección en humanos.

La *Y. pestis* también produce una bacteriocina (pestici- na); la enzima isocitrato liasa que se supone es específica, y también otros productos. Algunos antígenos de la *Y. pestis* reaccionan de manera cruzada con otras yersinias; los bacterió- fagos de la *Y. pestis* pueden producir lisis de otras yersinias.

Patogenia y patología

Cuando una pulga chupa sangre a un roedor infectado con *Y. pestis*, los microorganismos ingeridos se multiplican en el in- testino de la pulga y, ayudados por la coagulasa, bloquean su proventrículo de modo que no puede pasar alimento a través del mismo. Después, la pulga "bloqueada" y hambrienta pica y la sangre aspirada, contaminada con *Y. pestis*, regurgita en la herida causada por la picadura. Los microorganismos inoculados pueden fagocitarse por células polimorfonucleares y monocitos. Los microorganismos de la *Y. pestis* pueden ser destruidos por células polimorfonucleares, pero se multiplican en los monocitos; puesto que la bacteria se multiplica a 37 °C, pro- ducen proteínas antifagocitarias y subsecuentemente pueden resistir la fagocitosis. Los patógenos alcanzan con rapidez los linfáticos y se desarrollan inflamación hemorrágica intensa en los ganglios linfáticos hipertrofiados que a veces sufren necro- sis y se hacen fluctuantes. Aunque la invasión puede detenerse allí, por lo general los microorganismos de *Y. pestis* alcanzan la corriente sanguínea y se diseminan ampliamente. Pueden en- tonces desarrollarse lesiones hemorrágicas y necrosantes en todos los órganos, destacando en estos casos meningitis, neu- monía y pleuropneumonitis serosanguinolenta.

La peste neumónica primaria se debe a la inhalación de pequeñas gotas infectantes (generalmente por tos de un pa- ciente), con consolidación pulmonar hemorrágica, septicemia y muerte.

Datos clínicos

Después de un periodo de incubación de 2 a 7 días, aparecen fiebre alta y linfadenopatía dolorosa, comúnmente con gan- glios linfáticos dolorosos y muy hipertrofiados ("bubones") en la ingle o las axilas. Al principio de la septicemia pueden presentarse vómito y diarrea. Después, la coagulación intra- vascular diseminada produce hipotensión, alteración del es- tado mental e insuficiencias renal y cardíaca. Al final pueden aparecer signos de neumonía y meningitis, y la *Y. pestis* se multiplica dentro de los vasos, pudiendo observarse en los frotis sanguíneos.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

La peste bubónica debe sospecharse en pacientes febriles expuestos a roedores en áreas que se sabe son endémicas. El reconocimiento rápido y la confirmación del laboratorio de esta enfermedad es indispensable para instituir una tera- péutica que salve la vida.

A. Muestras

Se recolecta sangre para cultivo y se aspira material de los ganglios linfáticos hipertrofiados para frotis y cultivo. Pueden

examinarse los sueros de pacientes con enfermedad aguda y convalecientes para determinar la concentración de anticuer- pos. En la neumonía se cultiva esputo; en la presunta menin- gitis se recolecta líquido cefalorraquídeo para frotis y cultivo.

B. Frotis

Se examina el material obtenido por aspiración con aguja luego de someterlo a tinción de Giemsa y con colorantes específicos inmunofluorescentes. Con el colorante de Wayson la *Y. pestis* puede mostrar una apariencia notablemente bipolar. También se deben teñir frotis de esputo y de líquido cefalorraquídeo.

C. Cultivo

Todos los materiales se cultivan sobre cajas de agar sangre y agar de MacConkey, y en caldo de infusión. El crecimiento sobre medio sólido puede ser lento, pero frecuentemente los hemocultivos son positivos en 24 h. Los cultivos pue- den identificarse tentativamente por reacciones bioquímicas. Pero la identificación definitiva se logra mejor mediante inmunofluorescencia (confirmación disponible a través de los laboratorios del departamento estatal de salud y consul- tando los *Centers for Disease Control and Prevention, Pla- gue Branch*, Fort Collins, CO 80522).

Todos los cultivos son muy infectantes y deben mane- jarse con precaución extrema.

D. Serología

En pacientes no vacunados previamente, un título de anticuer- pos en suero de convaleciente de 1:16 o mayor es evidencia presuntiva de infección por *Y. pestis*. El aumento del título en dos muestras secuenciales confirma el diagnóstico serológico.

Tratamiento

A menos que se trate pronto, la peste bubónica puede pre- sentar una tasa de mortalidad de casi 50%; y la peste neu- mónica, de casi 100%. El fármaco recomendable es la estreptomycin. La tetraciclina es un fármaco alternativo y a veces se administra en combinación con el primero. No se ha observado resistencia a fármacos en *Y. pestis*.

Epidemiología y control

La peste bubónica es una infección de roedores silvestres (ratón de campo, rata del desierto, topos, zorrillos y otros animales) que se encuentran en muchas partes del mundo. Las principales áreas endémicas son India, el sureste de Asia (en especial Vietnam), África, y norte y sur de América. Los estados occidentales de EUA y México siempre tienen reservorios de la infección. De manera intermitente se pre- sentan epizootias con tasas de mortalidad elevada; durante ese tiempo la infección puede propagarse a roedores do- mésticos (p. ej., ratas) y a otros animales (p. ej., gatos), y los humanos pueden infectarse por piquetes de pulga o por contacto con animales. El vector más común de la peste bubónica es la pulga de la rata (*Xenopsylla cheopis*), pero otras pulgas también pueden transmitir la infección.

El control de la peste requiere el examen de animales infectados, de vectores y de contactos humanos (en EUA

esto se logra mediante oficinas estatales y locales con apoyo de la *Plague Branch of the Centers for Disease Control and Prevention*), además de la exterminación de los animales enfermos. Si se diagnostica un caso en humanos, de inmediato debe notificarse a las autoridades de salud. Todo paciente bajo sospecha de padecer peste bubónica debe aislarse, en particular si no se ha excluido la infección pulmonar. Todas las muestras deben tratarse con precaución extrema. A los contactos de pacientes bajo sospecha de peste neumónica se les debe administrar tetraciclina como quimioprofilaxis.

Se dispone de una vacuna de bacterias muertas con formol para viajeros a regiones hiperendémicas y personas con particular elevación de riesgo.

YERSINIA ENTEROCOLITICA Y YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS

Son bacilos gramnegativos no fermentadores de lactosa, ureasa-positivos y oxidasa-negativos. Crecen mejor a 25 °C y están dotados de motilidad a 25 °C, pero no a 37 °C. Se les encuentra en el intestino de varios animales, en los cuales pueden causar enfermedad, y son transmisibles a humanos, en quienes a veces producen diversos síndromes clínicos.

Existen más de 50 serotipos de *Y. enterocolitica*; la mayor parte de los aislados en enfermedades que atacan a humanos pertenecen a los serotipos O3, O8 y O9. Hay una notable diferencia geográfica en la distribución de los serotipos de *Y. enterocolitica*. Existen cuando menos seis serotipos de *Y. pseudotuberculosis*, pero el serotipo O1 explica la mayor parte de las infecciones en humanos. La *Y. enterocolitica* puede producir una enterotoxina termoestable, pero no está bien definida la función de esta toxina en la diarrea relacionada con la infección.

La *Y. enterocolitica* se puede aislar de roedores y animales domésticos (p. ej., ovejas, ganado bovino, cerdos, perros y gatos) y aguas contaminadas por estos animales. La transmisión al ser humano tal vez tiene lugar por contaminación de alimentos y bebidas, o fomites. La *Y. pseudotuberculosis* se presenta en animales domésticos y de granja, así como en aves; todos excretan el microorganismo en sus heces. La infección humana puede resultar de la ingestión de materiales contaminados con heces de animales. En pocos casos es probable la transmisión de una persona a otra de cualquiera de estos microorganismos.

Patogenia y datos clínicos

Para producir infección debe penetrar al aparato digestivo un inóculo de 10^8 a 10^9 yersinias. Durante el periodo de incubación de 5 a 10 días, las yersinias se multiplican en la mucosa intestinal, en particular sobre el íleon, lo que causa inflamación, ulceración y aparición de leucocitos en las heces. El proceso puede extenderse a los ganglios linfáticos mesentéricos y pocas veces produce bacteriemia.

Los síntomas iniciales incluyen fiebre, dolor abdominal y diarrea. Esta última varía desde acuosa hasta sanguinolenta y puede ser causada por una enterotoxina o por invasión de la mucosa. A veces, el dolor abdominal es intenso y lo-

calizado en el cuadrante inferior derecho, lo cual sugiere apendicitis. Una o dos semanas después del inicio, algunos pacientes presentan artralgia, artritis y eritema nudoso, que indica reacción inmunitaria a la infección. Muy pocas veces la infección por yersinia produce neumonía, meningitis o septicemia; en la mayor parte de los casos es autolimitada.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras pueden ser materia fecal, sangre o material obtenido durante la exploración quirúrgica. Los frotis teñidos no contribuyen al diagnóstico.

B. Cultivo

Las yersinias pueden ser escasas en las heces, pero pueden incrementarse por "enriquecimiento en frío": se coloca una pequeña cantidad de heces o de frotis rectal en solución salina amortiguada a pH 7.6 y se conserva a 4 °C durante 2 a 4 semanas: muchos microorganismos fecales no sobreviven, pero la *Y. enterocolitica* se multiplica. Subcultivos elaborados a intervalos sobre agar de MacConkey pueden hacer crecer a la yersinia.

C. Serología

En muestras de suero recolectadas por pares a intervalos de dos o más semanas es posible demostrar un aumento en los anticuerpos aglutinantes; sin embargo, las reacciones cruzadas entre las yersinias y otros microorganismos (vibrones, salmonelas, brucelas) pueden hacer dudosos estos resultados.

Tratamiento

Las infecciones por yersinia que producen diarrea, en su mayor parte son autolimitadas y se desconocen los posibles beneficios de la terapéutica antimicrobiana. En general, la *Y. enterocolitica* es susceptible a aminoglucósidos, cloranfenicol, tetraciclina, trimetoprim-sulfametoxazol, piperacilina, cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas; generalmente es resistente a la ampicilina y a las cefalosporinas de primera generación. La septicemia y la meningitis por yersinia tienen una tasa de mortalidad elevada, pero las muertes ocurren sobre todo en pacientes inmunodeficientes. La septicemia por yersinia se puede tratar con éxito mediante cefalosporinas de tercera generación (quizá en combinación con un aminoglucósido) o una fluoroquinolona (quizá en combinación con otro antimicrobiano). Cuando las manifestaciones clínicas sugieren fuertemente apendicitis o adenitis mesentérica, la regla es la exploración quirúrgica, a menos que varios casos simultáneos indiquen la probabilidad de infección por yersinia.

Prevención y control

El contacto con animales domésticos y de granja, sus heces, o materiales contaminados por ellos, quizá explique casi todas las infecciones en humanos. En ocasiones se han señalado la carne y los productos lácteos como fuentes de

infección, y un grupo de brotes pudieron seguirse hasta alimentos o bebidas contaminadas. Tal vez las precauciones sanitarias convencionales sean útiles. No hay medidas preventivas específicas.

PASTEURELLAS

Las especies de *Pasteurella* son patógenos principalmente de animales, pero pueden producir algunas enfermedades en humanos. Antes, el término genérico *pasteurelas* incluía todas las yersinias y franciselas y también las *pasteurelas* estudiadas más adelante.

Las *pasteurelas* son coccobacilos gramnegativos desprovistos de motilidad con aspecto bipolar en los frotis teñidos. Son aerobios o anaerobios facultativos que crecen con facilidad sobre medios bacteriológicos ordinarios a 37 °C. Todos son oxidasa-positivos y catalasa-positivos, pero divergen en otras reacciones bioquímicas.

La *Pasteurella multocida* se encuentra en todo el mundo en los aparatos respiratorio y gastrointestinal de muchos animales domésticos y silvestres. Es quizá el microorganismo más común en las heridas humanas infligidas por mordeduras de gatos y perros. Es una de las causas comunes de septicemia hemorrágica en varios animales, incluso conejos, ratas, caballos, ovejas, aves de corral, gatos y cerdos. También produce infecciones varios sistemas del hombre y a veces puede ser parte de la flora humana normal.

La *Pasteurella haemolytica* se encuentra en las vías respiratorias superiores de bovinos, ovejas, cerdos, caballos y aves de corral. Es causa importante de neumonía epizootica en ganado bovino y ovejas, y de cólera aviar en pollos y pavos, causando pérdidas económicas importantes. Al parecer, la infección en humanos es poco común.

La *Pasteurella pneumotropica* es un habitante normal de las vías respiratorias y del intestino de ratones y ratas y puede causar neumonía o septicemia cuando el equilibrio huésped-parásito se altera. Se han presentado pocas infecciones en humanos como resultado de mordeduras de animal.

La *Pasteurella ureae* se encuentra pocas veces en animales, pero es parte de una flora mixta en enfermedades crónicas respiratorias humanas y en otras infecciones supurantes.

Datos clínicos

El cuadro más común es antecedente de mordedura por animal seguida en pocas horas por eritema, inflamación y dolor de inicio agudo. La linfadenopatía regional es variable, y con frecuencia la fiebre es de baja intensidad. Las infecciones por *pasteurela* a veces se presentan como bacteriemia o infección respiratoria crónica sin relación evidente con animales.

Pasteurella multocida es susceptible a la mayor parte de los antibióticos. Se considera que la penicilina G es el fármaco de elección para infecciones por *P. multocida* que resultan de mordeduras de animales. Las tetraciclinas y las fluoroquinolonas son fármacos alternativos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Un hombre de 18 años de edad residente de Arizona llegó al departamento de urgencias con malestares de fiebre, dolor en la ingle izquierda y diarrea durante los dos días anteriores. En el examen resultó sin fiebre, sus pulsaciones eran 126/min, su frecuencia respiratoria era de 20/min y la tensión arterial de 130/80 mm Hg. Se observó hinchazón e hipersensibilidad en su ingle izquierda. Se diagnosticó esguince de la ingle, atribuido a una caída dos días antes. Se le dio un tratamiento con fármacos antiinflamatorios no esteroideos y se le dio de alta. Al siguiente día el paciente informó que se sentía débil, tenía dificultad para respirar y que sufrió un colapso mientras se duchaba. Se trasladó al paciente a la sala de urgencias de un hospital y se dictaminó muerte poco después de haber llegado. Los cultivos de muestras de sangre que se obtuvieron en el departamento de urgencias dieron positivo para *Yersinia pestis*. Una investigación epidemiológica indicó que lo más probable es que el paciente se infectó como resultado de piquetes de pulgas infectadas con *Y. pestis* mientras caminaba por una colonia de perros de las praderas. (Véase el capítulo 48.) ¿Cuál de las siguientes declaraciones acerca de la patogénesis de peste es correcta?
 - Yersinia pestis* produce una coagulasa cuando se incuba a 28 °C
 - No hay riesgo de neumonía causada por transmisión de persona a persona de *Yersinia pestis*.
 - Los organismos de *Yersinia pestis* se multiplican en células polimorfonucleares
 - Después del piquete de una pulga infectada, la infección por *Yersinia pestis* pocas veces se desarrolla más allá del sitio del piquete de la pulga y los ganglios linfáticos regionales
 - Yersinia pestis* se transmite a los animales (y humanos) en las heces de pulgas excretadas cuando se alimenta
- El fármaco que hubo que elegir para tratar al paciente de la pregunta 1 habría sido:
 - Ampicilina
 - Cefotaxima
 - Levofloxacina
 - Eritromicina
 - Estreptomina
- La bacteria *Yersinia pestis* entró a Norteamérica por San Francisco en el decenio de 1890-99, llevada por ratas en barcos que habían zarpado de Hong Kong, donde ocurrió una epidemia de peste. El reservorio actual para *Yersinia pestis* en EUA es:
 - Gatos salvajes urbanos
 - Ratas urbanas
 - Vacas domésticas
 - Coyotes
 - Rodedores salvajes rurales
- ¿Cuál de los siguientes microorganismos por lo común no se considera un agente potencial de bioterrorismo y guerra biológica?
 - Yersinia pestis*
 - Toxina botulínica
 - Staphylococcus aureus*
 - Especies de *Brucella*
 - Bacillus anthracis*
- Un gato callejero mordió a un niño de ocho años de edad. Dos días después, la herida se puso roja e inflamada y drenó líquido purulento. De la herida se cultivó

Pasteurella multocida. El fármaco de elección para tratar esta infección es:

- A. Amikacina
- B. Eritromicina
- C. Gentamicina
- D. Penicilina G
- E. Clindamicina

6. La bacteria *Pasteurella multocida* por lo general es resistente a:

- A. Penicilina G
- B. Ciprofloxacina
- C. Tetraciclina
- D. Cloranfenicol
- E. Ninguno de los anteriores

Respuestas: 1 = A; 2 = E; 3 = E; 4 = C; 5 = D; 6 = E

REFERENCIAS

- Bockermühl J, Wong JD: *Yersinia*. In: *Manual of Clinical Microbiology* 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press 2003.
- Butler T: *Yersinia* species, including plague. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- von Graevenitz A, Zbinden R, Mutters R: *Actinobacillus, Capnocytophaga, Eikenella, Kingella, Pasteurella*, and other fastidious or rarely encountered gram-negative rods. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Zurlo JJ: *Pasteurella* species. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.

Neisserias

La familia *Neisseriaceae* incluye las especies de *Neisseria* y *Moraxella catarrhalis* y también *Acinetobacter* y *Kingella*, así como otras especies de *Moraxella* (véase capítulo 17). Las *Neisserias* son cocos gramnegativos generalmente presentes en pares. *Neisseria gonorrhoeae* (gonococos) y *Neisseria meningitidis* (meningococos) son patógenos para humanos y por lo general se les encuentra dentro de las células polimorfonucleares o acompañados de ellas. Algunas *Neisserias* son habitantes normales del aparato respiratorio humano: pocas veces, si acaso alguna, causan enfermedad, y se encuentran fuera de las células. En el cuadro 21-1 se presenta una lista con los miembros del grupo.

Los gonococos y los meningococos están muy relacionados, con homología del DNA de 70%, y se diferencian mediante algunas pruebas de laboratorio y características específicas: los meningococos poseen cápsulas de polisacárido, en tanto los gonococos no, y los meningococos algunas veces poseen plásmidos, mientras la mayor parte de los gonococos sí los poseen. De mayor importancia es que las dos especies pueden diferenciarse por el cuadro clínico de la enfermedad que suelen causar: en general, los meningococos se encuentran en el aparato respiratorio superior y causan meningitis, en tanto que los gonococos causan infecciones genitales. Sin embargo, la diversidad de las enfermedades clínicas causadas por gonococos y meningococos se sobrepone.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

La *Neisseria* típica es un diplococo gramnegativo carente de motilidad de 0.8 μ m de diámetro aproximadamente (figuras 21-1 y 21-2). Los cocos individuales tienen forma de riñón; cuando los microorganismos se presentan en pares están adyacentes los lados planos o cóncavos.

B. Cultivo

En 48 h. en medio de cultivo enriquecido (p. ej., Mueller-Hinton, Thayer-Martin modificado) los gonococos y los meningococos forman colonias convexas, brillantes y elevadas de 1 a 5 mm de diámetro. Las colonias son transparentes u opacas, no pigmentadas y no hemolíticas. *Neisseria flavescens*, *Neisseria subflava* y *Neisseria lactamica* tienen una pigmentación amarilla. *Neisseria sicca* produce colonias opacas, brillantes y plegadas. *Neisseria catarrhalis* produce colonias opacas no pigmentadas o grisáceas.

C. Características de crecimiento

Las *Neisserias* crecen mejor en condiciones aerobias, pero algunas crecen en ambiente anaeróbico. Los requerimientos para su desarrollo son complejos. La mayor parte de las

Cuadro 21-1. Reacciones bioquímicas de las *Neisserias*

	Crecimiento en medio MTM, ML o NYC ¹	Ácido formado a partir de				DNAsa
		Glucosa	Maltosa	Lactosa	Sacarosa o fructosa	
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	+	-	-	-	-
<i>N. meningitidis</i>	+	+	+	-	-	-
<i>N. lactamica</i>	+	+	+	+	-	-
<i>N. sicca</i>	-	+	+	-	+	-
<i>N. subflava</i>	-	+	+	-	±	-
<i>N. mucosa</i>	-	+	+	-	+	-
<i>N. flavescens</i>	-	-	-	-	-	-
<i>N. cinerea</i>	±	-	-	-	-	-
<i>M. catarrhalis</i>	-	-	-	-	-	+

¹ MTM = medio de Thayer-Martin modificado, ML = medio Martin-Lewis, NYC = medio New York City.

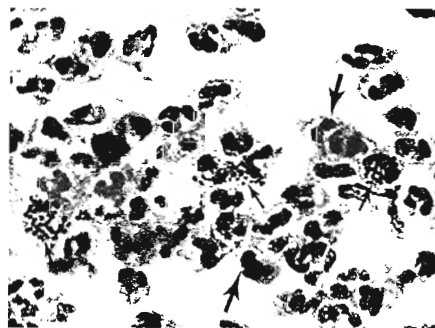


Figura 21-1. Tinción de Gram del exudado uretral de un paciente con gonorrea. Se observan imágenes de núcleos y membranas celulares de muchas células polimorfonucleares (dos se indican con flechas grandes). Los diplococos gramnegativos intracelulares (*Neisseria gonorrhoeae*) en acúmulos se marcan con flechas pequeñas.

neisserias fermentan carbohidratos y producen ácido, pero no gas, y sus patrones de fermentación de carbohidratos son un medio para distinguirlas (cuadro 21-1). Producen oxidasa y dan reacciones oxidasa-positivas: el ensayo de oxidasa es una prueba clave para identificarlas. Cuando las bacterias se colocan sobre papel filtro humedecido con clorhidrato de tetrametilparafenilendiamina (oxidasa) las neisserias rápidamente adoptan color púrpura oscuro.

Los meningococos y los gonococos crecen mejor sobre medios que contengan sustancias orgánicas complejas, como sangre calentada, hemina y proteínas de animales y en una atmósfera con 5% de CO_2 (p. ej., frasco con vela). El crecimiento se inhibe por algunos constituyentes tóxicos del medio, por ejemplo, ácidos grasos o sales. Los organismos mueren con rapidez con la desecación, luz solar, calor húmedo y muchos desinfectantes. Producen enzimas autolíticas que causan tumefacción rápida y lisis *in vitro* a 25 °C y con pH alcalino.

NEISSERIA GONORRHOEAE

Los gonococos sólo fermentan glucosa y difieren antigénicamente de otras neisserias. En general, los gonococos producen colonias más pequeñas que las de otras neisserias. Los gonococos que requieren arginina, hipoxantina y uracilo (auxotipo *Arg⁻, Hyx⁻, Ura⁻*) tienden a crecer más lentamente en el cultivo primario. Los gonococos aislados de muestras clínicas o conservados por subcultivo selectivo típicamente muestran colonias pequeñas que contienen bacterias con *pili*. En subcultivo no selectivo también se forman colonias de mayor tamaño que contienen gonococos desprovistos de *pili*. También se presentan las variantes opaca y transparente de las colonias de tipo pequeño y grande; las colonias opacas se relacionan con la presencia de una proteína expuesta en la superficie, Opa.

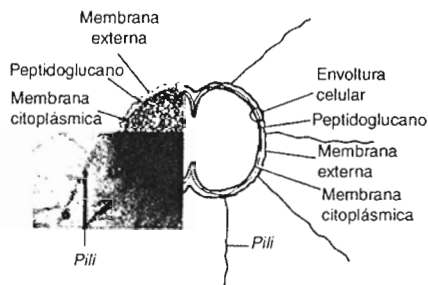


Figura 21-2. Composición y dibujo de la *N. gonorrhoeae* mostrando los *pili* y las tres capas de la envoltura celular.

Estructura antigénica

La *N. gonorrhoeae* es antigénicamente heterogénea y capaz de cambiar las estructuras de superficie *in vitro* (y presuntamente *in vivo*) para evitar las defensas del huésped. Las estructuras de superficie incluyen lo siguiente:

A. Pili

Los *pili* son apéndices semejantes a cabellos que se extienden hasta varios micrómetros de la superficie del gonococo. Incrementan la adhesión a las células huésped y la resistencia a la fagocitosis. Están constituidos por proteínas *pilina* apiladas (PM 17 000 a 21 000). Se conserva el grupo amino terminal de la molécula *pilina* que contiene un gran porcentaje de aminoácidos hidrofóbicos. Las secuencias de aminoácidos cercanas a la porción media de la molécula también se conservan; esta parte de la molécula sirve para la adhesión a las células huésped y es menos importante en la respuesta inmunitaria. La secuencia de aminoácidos próxima a la región carboxilo terminal es muy variable; esta porción de la molécula es más importante en la respuesta inmunitaria. Las *pilinas* de casi todas las cepas de *N. gonorrhoeae* son antigénicamente diferentes, y una sola cepa puede elaborar muchas variedades de *pilina* antigénicamente distintas.

B. Proteína Por

La proteína *Por* se extiende a través de la membrana celular del gonococo. Se presenta en trímeros para formar poros en la superficie a través de los cuales penetran algunos nutrientes a la célula. El peso molecular de la proteína *Por* varía de 34 000 a 37 000. Cada cepa de gonococos sólo expresa un tipo de proteína *Por*, pero la proteína *Por* de diferentes cepas es antigénicamente diferente. La tipificación serológica de la *Por* mediante reacciones de aglutinación con anticuerpos monoclonales puede distinguir 18 variantes serológicas de *Por* A y 28 de *Por* B. (La tipificación serológica sólo se efectúa en laboratorios de referencia.)

C. Opa (proteína II)

Esta proteína tiene como función la adherencia de los gonococos dentro de las colonias y la adhesión del gonococo a las células huésped, especialmente aquellas células que expresan antígenos carcinoembrionarios (CD66). Una parte de la proteína Opa se encuentra en la membrana externa del gonococo y el resto queda expuesto sobre la superficie. El peso molecular de la Opa varía de 24 000 a 32 000. Una cepa de gonococos puede expresar uno, dos, ocasionalmente tres tipos de Opa o ninguno; pero cada cepa tiene 10 o más genes para diferentes Opas. La Opa se encuentra en los gonococos de colonias opacas, pero puede o no estar presente en las colonias transparentes.

D. Proteína Rmp

Esta proteína (PM de casi 33 000) persiste antigénicamente en todos los gonococos. Es una proteína modificable por reducción (Rmp; del inglés *reduction-modifiable protein*) y cambia su peso molecular aparente cuando se encuentra en estado reducido. Se relaciona con la Por en la formación de los poros sobre la superficie de la célula.

E. Lipooligosacárido (LOS)

Al contrario de los bacilos entéricos gramnegativos (véanse capítulos 2 y 16), los lipooligosacáridos (LPS) gonocócicos carecen de una cadena lateral larga de antígeno O y se denominan lipooligosacáridos. Su peso molecular es de 3 000 a 7 000. Los gonococos pueden expresar de manera simultánea más de una cadena de LOS antigénicamente diferente. La toxicidad en las infecciones gonocócicas se debe principalmente a los efectos endotóxicos de los LOS.

En una variante de mimetismo molecular, los gonococos elaboran moléculas de LOS estructuralmente parecidas

a los glucosfingolípidos de la membrana de las células humanas. Estas estructuras se presentan en el cuadro 21-2; en la figura 21-3 se representa una de estas estructuras. Los gonococos LOS y los glucosfingolípidos humanos de la misma clase estructural reaccionan con el mismo anticuerpo monoclonal, lo cual indica el mimetismo molecular. Una estructura LOS conservada posee la misma fracción lacto-*N*-neotetraosa glucosa de la serie paraglobósida de los glucosfingolípidos humanos. También se comparten otras estructuras neiséricas de glucosa de los LOS con las de las series globósida, gangliósida y lactósida. La presencia en la superficie del gonococo de las mismas estructuras que en las células humanas ayuda al gonococo a evadir el reconocimiento inmunitario.

La galactosa terminal de los glucosfingolípidos humanos con frecuencia está conjugada con ácido siálico. El ácido siálico es de nueve carbonos, ácido 5-*N*-acetilado quetulosónico, también denominado ácido *N*-acetilneuramínico (NANA; del inglés *N-acetylneuraminic acid*). Los gonococos no elaboran ácido siálico, pero sí una sialil transferasa cuya función es captar NANA del nucleótido azúcar citidina humano ácido 5'-monofosfo-*N*-acetilneuramínico (CMP-NANA) y colocar el NANA sobre la galactosa terminal de un aceptor del LOS gonocócico. Esta sialilación afecta la patogenia de la infección gonocócica. Confiere resistencia al gonococo contra la destrucción por el sistema anticuerpo-complemento humano e interfiere con la unión del gonococo a los receptores sobre las células fagocíticas.

La *Neisseria meningitidis* y el *Haemophilus influenzae* elaboran muchas estructuras LOS, pero no todas iguales a las de *N. gonorrhoeae*. La biología de los LOS para las tres especies y para algunas de las especies de *Neisseria*

Cuadro 21-2. Lipooligosacáridos de *Neisseria gonorrhoeae*, estructuras glucosfingolípidas equivalentes a las de las membranas de las células humanas, y anticuerpos monoclonales específicos que reconocen la estructura que ayudan a caracterizarlas¹

Serie de glucosfingolípidos	Anticuerpo monoclonal	Estructura del lipooligosacárido y del glucosfingolípidos
Sialoglobósido	Ninguno	NeuNAc2→3Galα1→4Galβ1→4Glcβ1→4Hep1→Kdo
Globósido	Pk	Galα1→4Galβ1→4Glcβ1→4Hep1→Kdo
Lactosil	2-1-L8,4C4	Galβ1→4Glcβ1→4Hep1→Kdo
Lactósido	L6	GlcNAcβ1→Galβ1→4Glcβ1→4Hep1→Kdo
Paraglobósido	1B2	Galβ1→4GlcNAcβ1→Galβ1→4Glcβ1→4Hep1→Kdo
Sialoparaglobósido	Ninguno	NeuNAc2→3Galβ1→4GlcNAcβ1→Galβ1→4Glcβ1→4Hep1→Kdo
Gangliósido	1-1-M	GalNAcβ1→3Galβ1→4GlcNAcβ1→Galβ1→4Glcβ1→4Hep1→Kdo
Globósido	P1	Galα1→4Galβ1→4GlcNAcβ1→Galβ1→4Glcβ1→4Hep1→Kdo

¹ Cortesía de J McLeod Grifiss.

Clave:

Gal = galactosa

Glc = glucosa

GalNAc = *N*-acetilgalactosamina

GlcNAc = *N*-acetilglucosamina

NeuNAc = ácido *N*-acetilneuramínico

Hep = heptosa

Kdo = ácido 3-desoxi-D-manno-2-octulosónico

Galβ1→4Glc = lactosa

Galβ1→4GlcNAc = lactosamina

Galβ1→3GlcNAcβ1→Galβ1→4Glc = lacto-*N*-neotetraosa



no patógenas es similar. Cuatro de los diferentes serogrupos de la *N. meningitidis* elaboran diferentes cápsulas de ácido siálico (véase después), lo cual indica que también poseen vías de biosíntesis diferentes de las de los gonococos. Estos cuatro serogrupos sialilan sus LOS al utilizar el ácido siálico de sus reservas endógenas.

F. Otras proteínas

Varias proteínas antigénicamente constantes de los gonococos tienen una función mal definida en la patogenia. La **Lip (H8)** es una proteína de superficie expuesta, modificable por el calor igual que la Opa. La **Fbp** (del inglés *iron-binding protein*, proteína de unión a hierro), similar en peso molecular a la *Por*, se expresa cuando el suministro disponible de hierro es limitado, por ejemplo, en la infección humana. Los gonococos elaboran una **proteasa IgA1** que desdobra e inactiva la IgA1, una inmunoglobulina de las mucosas importante en humanos. Los meningococos, el *Haemophilus influenzae* y el *Streptococcus pneumoniae* elaboran una proteasa IgA1 similar.

Genética y heterogeneidad antigénica

Los gonococos han desarrollado mecanismos para cambiar frecuentemente de una modalidad antigénica (*pilina*, Opa o lipopolisacáridos) a otra modalidad antigénica de la misma molécula. Esta variación tiene lugar en 1 por cada $10^{2.5}$ a 10^3 gonococos, una tasa muy rápida de cambio para bacterias. Puesto que la *pilina*, la Opa y el lipopolisacárido son antígenos expuestos en la superficie del gonococo, son importantes en la respuesta inmunitaria a la infección. El cambio rápido de las moléculas de una variedad antigénica a otra ayuda al gonococo a eludir el sistema inmunitario del huésped.

El mecanismo de cambio para la *pilina*, el cual ha sido el más ampliamente estudiado, es diferente del mecanismo de la Opa.

Los gonococos poseen múltiples genes que codifican la *pilina*, pero sólo un gen se introduce en el sitio de expresión. Los gonococos pueden retirar todo o parte de este gen de la *pilina*, y reemplazarlo con todo o parte de otro gen de la *pilina*. Este mecanismo permite a los gonococos expresar con el tiempo muchas formas antigénicamente diferentes de *pilina*.

El mecanismo de variación de la Opa implica, al menos en parte, añadir o retirar DNA de una o más de las unidades pentaméricas repetitivas codificantes que preceden la secuencia que codifica el gen estructural de la Opa. Se desconoce el mecanismo de variación del lipopolisacárido.

En el cuadro 21-3 se muestran los antígenos y la heterogeneidad de los tipos.

Los gonococos poseen varios plásmidos; 95% de las cepas poseen un plásmido pequeño, "críptico" (PM 2.4×10^6) de función desconocida. Otros dos plásmidos (PM 3.4×10^6 y 4.7×10^6) contienen genes que codifican para la producción de β lactamasa causante de resistencia a la penicilina. Estos plásmidos son transmisibles por conjugación entre los gonococos; son similares a los plásmidos encontrados en los hemófilos productores de penicilinas y el hemófilo pudo adquirirlos de otros microorganismos gramnegativos. Entre 5 a 20% de los gonococos contienen un plásmido (PM 24.5×10^6) con los genes que codifican para la conjugación; la inci-

Cuadro 21-3. Heterogeneidad antigénica de las *Neisseria gonorrhoeae*

Antígeno	Número de tipos
<i>Pilina</i>	Cientos
<i>Por</i> (proteína) (Sistema de EUA)	<i>Por A</i> con 18 subtipos <i>Por B</i> con 28 subtipos
Opa (proteína II)	Muchos (quizá cientos)
Rmp (proteína III)	Uno
Lipooligosacárido	Ocho o más
Fbp (proteína de unión a hierro)	Uno
Lip (H8)	Uno
IgA1 proteasa	Dos

dencia es mayor en regiones geográficas donde los gonococos productores de penicilinas son más comunes. En los gonococos se ha desarrollado resistencia de gran nivel a la tetraciclina mediante la introducción de un gen estreptocócico que codifica la resistencia a la tetraciclina en el plásmido conjugativo.

Patogenia, patología y datos clínicos

Los gonococos muestran varios tipos morfológicos de colonias (véase antes), pero sólo las bacterias poseedoras de *pili* parecen ser virulentas. De los varones con uretritis sintomática y de los cultivos del cérvix uterino a mitad del ciclo menstrual pueden aislarse gonococos que forman colonias opacas. Los gonococos que forman colonias transparentes con frecuencia se aíslan de varones con infección uretral asintomática, de mujeres en menstruación y de variantes invasoras de gonorrea, incluso salpingitis e infección diseminada. En las mujeres, el tipo de colonia formado por una sola cepa de gonococo cambia durante el ciclo menstrual. Los gonococos aislados de los pacientes pueden formar colonias opacas o transparentes (véase antes), pero cuando se examina un crecimiento sobre un cultivo primario invariablemente muestran de 1 a 3 proteínas Opa. Los gonococos de colonias transparentes y sin proteína Opa casi nunca se encuentran en los cuadros clínicos, pero pueden seleccionarse en el laboratorio de investigación.

Los gonococos atacan las mucosas del aparato genitourinario, ojo, recto y faringe, para producir supuración aguda que puede conducir a invasión de los tejidos; esto va seguido de inflamación crónica y fibrosis. Por lo general, los varones presentan uretritis con pus espeso amarillento y dolor a la micción. El proceso puede extenderse hasta el epidídimo. En las infecciones no tratadas aparece fibrosis conforme la supuración cede y esto produce a veces estenosis uretral, la cual puede ser asintomática. En las mujeres, la infección primaria se encuentra en el endocervix y se extiende a uretra y vagina, dando lugar a una secreción mucopurulenta. Puede entonces progresar hasta las trompas uterinas y producir salpingitis, fibrosis y obliteración de las trompas. En 20% de las mujeres con salpingitis gonocócica se presenta esterilidad. La cervicitis o la proctitis gonocócicas crónicas con frecuencia son asintomáticas.

La bacteriemia gonocócica produce lesiones cutáneas (en especial pápulas y pústulas hemorrágicas) en manos, antebrazos, pies y piernas; y tenosinovitis y artritis supurativa casi siempre en rodillas, tobillos y muñecas. Se pueden cultivar gonococos de la sangre o del líquido articular sólo en 30% de los pacientes con artritis gonocócica. La endocarditis gonocócica es una infección grave aunque poco común. A veces, los gonococos causan meningitis e infección ocular en los adultos, con manifestaciones similares a las producidas por el meningococo.

La oftalmía neonatal gonocócica, infección ocular del recién nacido, se contrae durante el paso a través del canal de parto infectado. La conjuntivitis inicial avanza con rapidez y sin tratamiento produce ceguera. Para evitar la oftalmía neonatal gonocócica, en EUA es obligatoria la instilación de tetraciclina, eritromicina o nitrato de plata en el saco conjuntival del recién nacido.

Los gonococos que producen infección localizada suelen ser sensibles al suero (eliminados por anticuerpos y complemento), pero relativamente resistentes a fármacos antimicrobianos. Por el contrario, los gonococos que entran a la circulación sanguínea y producen infección diseminada generalmente son resistentes a componentes del suero pero pueden ser muy susceptibles a la penicilina y a otros antimicrobianos.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Para cultivo y frotis se recolectan pus y secreción de uretra, cérvix, recto, conjuntiva, faringe o líquido sinovial. En las enfermedades sistémicas se requiere hemocultivo, pero es útil un sistema especial del cultivo, puesto que los gonococos (y meningococos) son susceptibles al sulfonato de polianetol presente en los medios estándar para hemocultivo.

B. Frotis

El frotis con tinción de Gram de los exudados uretral o endocervical revelan muchos diplococos dentro de pioctitos, lo que proporciona un diagnóstico de presunción. Los frotis teñidos de exudado uretral de varones muestran una sensibilidad de casi 90% y una especificidad de 99%. Los frotis teñidos de exudado endocervical tienen una sensibilidad de casi 50% y una especificidad aproximada de 95% cuando los examina un microbiólogo experimentado. Si la tinción es positiva y el exudado procede de pacientes del sexo masculino no es necesario practicar cultivo del exudado uretral, pero en el caso de las mujeres deben efectuarse cultivos. Los frotis teñidos de exudado conjuntival también pueden ser diagnósticos, pero los que proceden de muestras faríngeas o rectales generalmente no son útiles.

C. Cultivo

El pus o el moco recién recolectados se estrictan sobre medio selectivo enriquecido (p. ej., medio Thayer-Martin modificado; Public Health Rep. 1966:81:559) y se incuban en una atmósfera que contenga 5% de CO₂ (recipiente con vela) a 37 °C. El medio de cultivo seleccionado debe contener antimicrobianos (p. ej., vancomicina, 3 µg/mL; colistina, 7.5 µg/mL; anfotericina B, 1 µg/mL; y trimetoprim, 3 µg/mL) para

evitar el crecimiento excesivo de contaminantes. Si no es posible la incubación inmediata, la muestra debe colocarse en un sistema de transporte y cultivo que contenga CO₂; 48 h después del cultivo, los microorganismos pueden identificarse con facilidad por su aspecto en el frotis con tinción de Gram, por su positividad a oxidasa, y mediante coagulación, tinción inmunofluorescente u otras pruebas de laboratorio. Las especies bacterianas en los subcultivos pueden determinarse mediante reacciones de fermentación (cuadro 21-1). En aislados gonocócicos obtenidos de niños o sitios anatómicos distintos al tracto genital en sujetos adultos, se debe identificar su especie a través de dos pruebas confirmatorias diferentes, debido a las implicaciones legales y sociales de los aislados.

D. Serología

El suero y el líquido genital contienen anticuerpos IgG e IgA contra *pilis*, proteínas de la membrana externa y LPS de los gonococos. Algunos anticuerpos IgM de suero humano son bactericidas *in vitro* para los gonococos.

En personas infectadas se pueden detectar anticuerpos dirigidos contra *pili* de gonococo y a proteínas de la membrana externa mediante pruebas de *immuno-blotting*, radioinmunoanálisis y ELISA (análisis de inmunoabsorbencia ligado a enzimas). Sin embargo, estas pruebas no son útiles como auxiliares del diagnóstico por varias razones: heterogeneidad antigénica de los gonococos; desarrollo retrasado de anticuerpos en la infección aguda; y la gran concentración de anticuerpos en la población sexualmente activa.

Inmunidad

Las infecciones gonocócicas repetidas son comunes. N. parece desarrollarse inmunidad protectora contra la reinfección como parte del proceso patológico debido a la variedad antigénica de los gonococos. Aunque es posible demostrar la presencia de anticuerpos, incluso IgA e IgG sobre las superficies mucosas, en general son muy específicos de cepa o tienen poca capacidad protectora.

Tratamiento

A partir del desarrollo y del uso extendido de la penicilina, gradualmente aumenta la resistencia del gonococo a este fármaco debido a la selección de mutantes cromosómicos; por tanto, muchas cepas requieren ahora grandes concentraciones de penicilina G para inhibirse (MIC ≥ 2 µg/mL). También ha aumentado la prevalencia de la *N. gonorrhoeae* productora de penicilinas (NGPP) (véase antes). Es común la resistencia a la tetraciclina mediada por genes cromosómicos (MIC ≥ 2 µg/mL). También puede presentarse resistencia a altas concentraciones de tetraciclina (MIC ≥ 32 µg/mL). Se ha observado resistencia a la espectinomina igual que a otros antimicrobianos. Debido a los problemas de la resistencia de *N. gonorrhoeae* a los antimicrobianos, el servicio de salud pública de EUA recomienda que las infecciones genitales o rectales no complicadas deben tratarse con dosis única de ceftriaxona, por vía intramuscular. En caso de una posible infección concomitante por clamidia se aconseja terapéutica adicional con doxiciclina por vía oral.

dos veces al día, durante siete días; en mujeres embarazadas se sustituye la eritromicina base, por vía oral cuatro veces al día, durante siete días, por doxiciclina. En la infección con otros tipos de *N. gonorrhoeae* se aconseja modificar estos tratamientos.

Puesto que es posible contraer otras enfermedades de transmisión sexual al mismo tiempo, hay que adoptar medidas para diagnosticar y tratarlas (véase el estudio de clamidias, sífilis, etc.)

Epidemiología, prevención y control

La gonorrea se presenta en todo el mundo. En EUA, su incidencia aumentó estacionariamente a partir de 1955 hasta finales del decenio de 1970-79, cuando la incidencia se encontraba entre 400 y 500 casos por cada 100 000 habitantes. Para en 1997, el uso extendido de prácticas sexuales seguras a propósito de la epidemia del SIDA, hizo disminuir la incidencia a aproximadamente 122.5 casos por 100 000 habitantes. La gonorrea se transmite exclusivamente por contacto sexual, casi siempre por mujeres y hombres con infección asintomática. Es tal la infectividad de los microorganismos, que la probabilidad de contraer infección a partir de una sola exposición con una pareja sexual infectada es de 20 a 30% para hombres e incluso mayor para mujeres. La tasa de infección puede reducirse al evitar múltiples parejas sexuales, mediante erradicación rápida del gonococo en personas infectadas por medio de diagnóstico y tratamiento oportunos, y con la detección de casos y contactos a través de la educación y el examen de poblaciones en alto riesgo. La profilaxis mecánica (p. ej., condón) da protección parcial. La quimioprofilaxis tiene valor limitado debido al incremento de la resistencia del gonococo a los antibióticos.

Las NGPP aparecieron por primera vez en 1976. Estas cepas de gonococo completamente resistentes a la penicilina se observaron en muchas partes del mundo, con mayor incidencia en poblaciones especiales, por ejemplo, 50% de las prostitutas en Filipinas. Otras regiones con gran incidencia de NGPP incluyen Singapur, partes del África subsahariana y algunas zonas de EUA. En muchas regiones de EUA y otras partes del mundo han ocurrido brotes locales de enfermedad causada por las NGPP y se han establecido focos endémicos.

La oftalmía neonatal gonocócica puede prevenirse mediante la aplicación local en la conjuntiva de los recién nacidos de ungüento oftálmico de eritromicina al 0.5% o de ungüento de tetraciclina al 1%. La aplicación de solución de nitrato de plata también es eficaz y es el método típico para prevenir la oftalmía *neonatorum*, pero el nitrato de plata es difícil de almacenar y causa irritación de la conjuntiva; su empleo ha sido reemplazado principalmente por el uso de ungüento de eritromicina o tetraciclina.

NEISSERIA MENINGITIDIS

Estructura antigénica

Se han identificado al menos 13 serogrupos de meningococos mediante la especificidad inmunitaria de los polisacáridos

de los capsulares. Los serogrupos más importantes relacionados con enfermedad en los humanos son A, B, C, Y y W-135. El polisacárido del grupo A es un polímero de fosfato de N-acetilmanosamina, y el grupo C es un polímero de ácido N-acetil-O-acetilneuramínico. Se encuentran antígenos meningocócicos en sangre y líquido cefalorraquídeo de pacientes con enfermedad activa. Los brotes y casos esporádicos en el hemisferio occidental durante el último decenio fueron causados principalmente por los grupos B, C, W-135 y Y; los brotes en el sur de Finlandia y Sao Paulo, Brasil, se debieron a grupos A y C; los de África fueron causados principalmente por el grupo A. El grupo C, y en especial el grupo A, se relacionan con epidemias de la enfermedad.

Las proteínas de la membrana externa de los meningococos se dividen en clases con base en su peso molecular. Todas las cepas poseen proteínas de clase 1, 2 o 3; éstas son análogas a las proteínas *Por* de los gonococos y definen la especificidad del serotipo del meningococo. Ayudan a formar los poros en la pared celular del meningococo. Se han definido hasta 20 serotipos: los serotipos 2 y 15 se relacionan con la epidemia de la enfermedad. La proteína Opa (clase 5) puede compararse con la Opa de los gonococos (los meningococos poseen *pili*, pero a diferencia de los gonococos, no forman tipos distintivos de colonias que indiquen bacterias con *pili*). El LPS del meningococo causa muchos de los efectos tóxicos observados en las enfermedades meningocócicas).

Patogenia, patología y datos clínicos

El humano es el único huésped natural para el cual el meningococo es patógeno. La puerta de entrada es la nasofaringe. Allí los microorganismos se adhieren a las células epiteliales con ayuda de los *pili*; pueden formar parte de la flora transitoria sin producir síntomas. Desde la nasofaringe, los microorganismos a veces alcanzan la circulación sanguínea y producen bacteriemia; los síntomas pueden simular los de una infección de vías respiratorias superiores. La meningococemia mortal es más grave, con fiebre elevada y erupción hemorrágica; puede haber coagulación intravascular diseminada y colapso circulatorio (síndrome de Waterhouse-Friderichsen).

La meningitis es la complicación más común de la meningococemia. Por lo general comienza de manera súbita con cefalea intensa, vómito y rigidez de cuello, y evoluciona hasta el coma en unas cuantas horas.

Durante la meningococemia hay trombosis de los vasos sanguíneos de pequeño calibre en muchos órganos, con infiltración perivascular y hemorragias petequiales. Pueden presentarse miocarditis intersticial, artritis y lesiones cutáneas. En la meningitis, las meninges presentan inflamación aguda con trombosis de vasos sanguíneos y exudado de leucocitos polimorfonucleares, de modo que la superficie del cerebro aparece recubierta de un exudado purulento espeso.

Se desconoce el factor que transforma una infección asintomática de la nasofaringe en meningococemia y meningitis, pero se puede prevenir con anticuerpos bactericidas séricos específicos contra el serotipo infectante. La bacteriemia por *neisseria* se favorece por la ausencia de anticuerpos bactericidas (IgM e IgG), inhibición de la ac-

ción bactericida del suero por un anticuerpo bloqueador IgA o deficiencia de componentes del complemento (C5, C6, C7 o C8). Los meningococos pueden fagocitarse con rapidez en presencia de una opsonina específica.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Se recolectan muestras de sangre para cultivo, y muestras de líquido cefalorraquídeo para frotis, cultivo y determinaciones químicas. Los cultivos de exudado nasofaríngeo son adecuados para detectar portadores. Se pueden puncionar las pettequis para obtener material para frotis y cultivo.

B. Frotis

Los frotis con tinción de Gram del sedimento del líquido cefalorraquídeo centrifugado, o de material aspirado de pettequis, con frecuencia muestran las neisserias típicas dentro de los leucocitos polimorfonucleares o fuera de las células.

C. Cultivo

Un medio de cultivo sin sulfonato de polianetol sódico es útil para el cultivo de las muestras de sangre. Las muestras de líquido cefalorraquídeo se colocan sobre agar sangre calentado ("agar chocolate") e incubado a 37 °C en una atmósfera con 5% de CO₂ (recipiente con vela). El líquido cefalorraquídeo recién extraído puede incubarse directamente a 37 °C si no se dispone de inmediato de medio de cultivo agar. El medio Thayer-Martin modificado con antibióticos (vancomicina, colistina, anfotericina) favorece el crecimiento de las neisserias, inhibe muchas otras bacterias, y se emplea para cultivo del exudado nasofaríngeo. Las presuntas colonias de neisseria sobre medio sólido, sobre todo en cultivo mixto, pueden identificarse mediante la tinción de Gram y la prueba de la oxidasa. Por lo general, el líquido cefalorraquídeo y la sangre producen cultivos puros que pueden identificarse adicionalmente mediante reacciones de fermentación de carbohidratos (cuadro 21-1) y aglutinación con suero polivalente o de tipo específico.

D. Serología

Los anticuerpos a polisacáridos meningocócicos pueden medirse mediante pruebas de aglutinación con perlas de látex o de hemaglutinación, o por su actividad bactericida. Estas pruebas se efectúan sólo en los laboratorios de referencia.

Inmunidad

La inmunidad a la infección meningocócica se relaciona con la presencia en el suero de anticuerpos bactericidas específicos dependientes de complemento. Estos anticuerpos se desarrollan después de la infección subclínica con diferentes cepas o de la inyección de antígenos y son específicos de grupo, de tipo, o ambos. Los antígenos inmunizantes para los grupos A, C, Y y W-135 son los polisacáridos capsulares. No se ha definido un antígeno específico para el grupo B que pueda emplearse como vacuna; no obstante, en muchas partes del mundo se han utilizado vacunas del

grupo B con mezclas de antígenos. Ya se encuentran en vía de desarrollo vacunas conjugadas para la mayoría de los grupos, las cuales parecen ser muy promisorias. Los lactantes a veces poseen inmunidad pasiva gracias a los anticuerpos IgG transferidos de su madre. En niños menores de dos años de edad no es confiable la producción de anticuerpos cuando se les inmuniza con polisacáridos de meningococo o de otras bacterias.

Tratamiento

La penicilina G es el fármaco de elección para tratar la enfermedad meningocócica. En personas alérgicas a la penicilina se emplea cloranfenicol o una cefalosporina de tercera generación, como cefotaxima o ceftriaxona.

Epidemiología, prevención y control

La meningitis meningocócica se presenta en brotes epidémicos (p. ej., campamentos militares; en peregrinos religiosos; en el África subsahariana; en Brasil hubo más de 15 000 casos en 1974) y un pequeño número de casos esporádicos entre las epidemias. De 5 a 30% de la población normal puede albergar meningococos (con frecuencia aislados no tipificables) en la nasofaringe durante los periodos interepidémicos. En las epidemias, la tasa de portadores aumenta hasta 70 a 80%. Un aumento en el número de casos va precedido por un incremento del número de portadores en vías respiratorias. El tratamiento con penicilina oral no erradica este estado de portador. La rifampicina, 600 mg vía oral dos veces al día, durante dos días (o la minociclina, 100 mg cada 12 h), casi siempre erradican el estado de portador y sirven como quimiopprofilaxia para los contactos cercanos en el hogar y en otros sitios. Desde la aparición de muchos meningococos resistentes a la sulfonamida, la quimiopprofilaxia con ese fármaco ya no es confiable.

Los casos clínicos de meningitis sólo representan una fuente insignificante de infección, y por tanto, el aislamiento es de utilidad limitada. Más importante es reducir los contactos personales en una población con muchos portadores. Esto se logra al evitar multitudes. Los polisacáridos específicos de los grupos A, C, Y y W-135 pueden estimular la respuesta de anticuerpos y proteger contra la infección a personas susceptibles. Estas vacunas se emplean actualmente en poblaciones seleccionadas (p. ej., militares y civiles en caso de epidemia).

OTRAS NEISSERIAS

La *Neisseria lactamica* pocas veces causa enfermedad, pero es importante debido a que crece en el medio selectivo (p. ej., medio de Thayer-Martin modificado) empleado para el cultivo de gonococos y meningococos procedentes de muestras clínicas. La *N. lactamica* se puede cultivar de la nasofaringe de 3 a 40% de las personas y se encuentra con mayor frecuencia en niños. A diferencia de otras neisserias, fermenta la lactosa.

Neis-
bros
lar d
La N
a sus

mella
mien
edad
nía, s
porta
inmu
cater
ficati
de di
los ca
cen b
trica

1. L
A
m
ni
ep
A
B
C
D
E
2. U
co
tr
es
alf
te
ar
A
B
C
D
3. El
inc

REFE
Apicell
Be

Neisseria sicca, *Neisseria subflava*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria mucosa* y *Neisseria flavescens* también son miembros de la flora normal del aparato respiratorio, en particular de la nasofaringe, y pocas veces producen enfermedad. La *N. cinerea* a veces se asemeja a la *N. gonorrhoeae* debido a sus patrones de fermentación de carbohidratos.

La *Moraxella catarrhalis*, antes denominada *Branhamella catarrhalis* y previamente *Neisseria catarrhalis*, es miembro de la flora normal en 40 a 50% de los niños en edad escolar. La *M. catarrhalis* causa bronquitis, neumonía, sinusitis, otitis media y conjuntivitis. También es importante como causa de infección en los pacientes inmunodeficientes. La mayor parte de las cepas de la *M. catarrhalis* procedentes de infecciones clínicamente significativas producen β -lactamasas. La *M. catarrhalis* se puede diferenciar de las otras neisserias porque no fermenta los carbohidratos y por su producción de DNasa. Producen butirato estersa, que es la base de la prueba fluorométrica rápida para identificarla.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Los habitantes de un grupo de pequeñas villas en el África subsahariana rural experimentaron una epidemia de meningitis; 10 % de las personas murieron, la mayoría menores de 15 años de edad. El microorganismo con más probabilidades de haber causado esta epidemia fue:
 - Streptococcus agalactiae* (grupo B)
 - Escherichia coli* K1 (tipo 1 capsular)
 - Serotipo b de *Haemophilus influenzae*
 - Serogrupo A de *Neisseria meningitidis*
 - Virus del Nilo oriental
- Un hombre de 19 años de edad se presentó a la clínica con flujo uretral durante las 24 h pasadas. De la muestra se cultivó *Neisseria gonorrhoeae* y se encontró que es β -lactamasa-positiva y resistente a concentraciones altas de tetraciclina ($\geq 32 \mu\text{g/mL}$). ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de los factores de resistencia antimicrobianos es correcta?
 - Los genes en plásmidos median la producción de β -lactamasa y la resistencia a alta concentración de tetraciclina
 - Un gen en el cromosoma bacteriano media la producción de β -lactamasa, en tanto que un gen en un plásmido media la resistencia a alta concentración de tetraciclina
 - Un gen en un plásmido media la producción de β -lactamasa, en tanto que un gen en el cromosoma bacteriano media la resistencia a alta concentración de tetraciclina
 - Genes en el cromosoma bacteriano median la producción de β -lactamasa y la resistencia a alta concentración de tetraciclina
- El medio de Thayer-Martin modificado se elaboró para incrementar la recuperación de *Neisseria gonorrhoeae*

de muestras del tracto genital. Este medio también se puede usar para cultivos de garganta en busca de neisseria. Los ingredientes que hacen selectivo a este medio para neisseria son:

- Agar
 - Una fuente de aminoácidos
 - Antibióticos
 - Glucosa
 - Vitaminas
- Un niño de seis años de edad presenta fiebre y cefalea. Es llevado a la sala de urgencias, donde se observa que tiene el cuello rígido, lo que hace pensar en irritación meníngea. Se hizo una punción lumbar y en el cultivo del líquido cefalorraquídeo crece el serogrupo B de *Neisseria meningitidis*. ¿Cuál de las siguientes indicaciones se debe considerar para los miembros de la familia del paciente?
 - Ninguna profilaxis u otros pasos son necesarios
 - Se les debe aplicar la vacuna de plina de *Neisseria meningitidis*
 - Se les debe suministrar la vacuna de cápsula de polisacárido del serogrupo B de *Neisseria meningitidis*
 - Se les debe administrar profilaxis con rifampina
 - Se les debe suministrar profilaxis con sulfonamida
 - Una mujer de 18 años de edad quien dijo haber tenido relaciones sexuales sin protección con su nuevo compañero hace dos semanas, presenta fiebre y dolor abdominal en el cuadrante inferior izquierdo con inicio junto con su período menstrual. En el examen pélvico en la sala de urgencias hay sensibilidad bilateral cuando se palpa el útero. En el lado izquierdo se siente una masa de 2 a 3 cm de diámetro, lo que hace pensar en un absceso tuboovárico. Después, de su endocervix se cultiva *Neisseria gonorrhoeae*. El diagnóstico es enfermedad inflamatoria pélvica gonocócica. Una secuela común de esta infección es:
 - Cáncer en el caso del cérvix
 - Constricción uretral
 - Tumores fibroides uterinos
 - Infertilidad
 - Fistula rectovaginal
 - Un policía de 38 años de edad llega a la sala de urgencias con una dolencia principal expresada como sigue: "Tengo de nuevo infección gonocócica diseminada". Él está en lo correcto. Los cultivos de la uretra y del líquido de la rodilla producen *Neisseria gonorrhoeae*. El paciente tuvo antes cinco episodios de infección gonocócica diseminada. La evaluación del paciente debe ser con respecto a:
 - Deficiencia selectiva de IgA
 - Un defecto quimiotáctico de células polimorfonucleares
 - Deficiencia de un componente del complemento de actuación tardía C5, C6, C7 o C8
 - Actividad ausente de la desaminasa de adenosina linfocitaria
 - Deficiencia de mieloperoxidasa

Respuestas: 1 = D; 2 = A; 3 = C; 4 = D; 5 = D; 6 = C

REFERENCIAS

Apicella MA: *Neisseria meningitidis*. In: Mandell, Douglas, and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th

ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone 2000.

Janda WM, Knapp JS: *Neisseria and Branhamella catarrhalis*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR *et al.* (editors). ASM Press, 2003.

Knapp JS, Koumans EH: *Neisseria and Branhamella*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone 2000.

Sparling PF, Handsfield HH: *Neisseria gonorrhoeae*. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone 2000.

Infecciones causadas por bacterias anaerobias

Las infecciones de importancia médica causadas por bacterias anaerobias son comunes. Estas infecciones casi siempre son polimicrobianas: es decir, las bacterias anaerobias se encuentran en infecciones mixtas con otros anaerobios, anaerobios facultativos y aerobios (véase el glosario de definiciones al final del capítulo). Las bacterias anaerobias se encuentran en todo el cuerpo humano —sobre piel, superficies mucosas y en concentraciones altas en boca y aparato gastrointestinal— como parte de la flora normal (véase capítulo 11). La infección se produce cuando los anaerobios y otras bacterias de la flora normal contaminan sitios del cuerpo normalmente estériles.

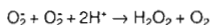
Las especies de clostridios del ambiente o de la flora normal causan varias enfermedades importantes: botulismo, tétanos, gangrena gaseosa, envenenamiento alimentario y colitis pseudomembranosa. Estas enfermedades se estudian en los capítulos 9 y 12 y de manera breve al final de este capítulo.

FISIOLOGÍA Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO PARA ANAEROBIOS

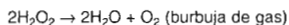
Las bacterias anaerobias no crecen en presencia de oxígeno y mueren por oxígeno o por sus radicales tóxicos (véase después). El pH y el potencial de óxido-reducción (E_h) también son importantes para establecer las condiciones que favorecen el crecimiento de los anaerobios, los cuales se desarrollan en E_h bajo o negativo.

Con frecuencia, los aerobios y anaerobios facultativos poseen los sistemas metabólicos mencionados adelante, en tanto que las bacterias anaerobias frecuentemente no los tienen.

- 1) Sistemas citocromo para el metabolismo del O_2 .
- 2) Superóxido dismutasa que cataliza la siguiente reacción:



- 3) Catalasa que cataliza la reacción siguiente:



Las bacterias anaerobias carecen del sistema del citocromo para metabolizar el oxígeno. Los anaerobios menos exigentes pueden mostrar concentraciones bajas de superóxido dismutasa (SOD) y pueden o no poseer catalasa. La mayor parte de las bacterias del grupo *Bacteroides fragilis* (los patógenos anaerobios más importantes) poseen pequeñas cantidades de catalasa y SOD. La toxicidad del oxígeno parece obedecer a múltiples mecanismos. Cuando los anaerobios poseen SOD o catalasa (o ambas), presuntamente tienen la capacidad de contrarrestar el efecto tóxico de los radicales oxígeno y del peróxido de hidrógeno y, por tanto, toleran el oxígeno. Los anaerobios obligados por lo general carecen de superóxido dismutasa y catalasa, y son susceptibles a los efectos mortales del oxígeno; estos anaerobios estrictos se aíslan con poca frecuencia en las infecciones humanas, las cuales se producen, la mayoría de las veces, por "anaerobios obligados moderados".

La capacidad de los anaerobios para tolerar oxígeno o crecer en su presencia varía de una especie a otra. De manera similar, existe variación entre las cepas de una especie determinada (p. ej., una especie de *Prevotella melaninogenica* puede crecer en una concentración de O_2 al 0.1% pero no en una de 1%; otra puede crecer en una concentración de 2%, pero no de 4%). Además, en ausencia de oxígeno algunas bacterias anaerobias crecen con un E_h más positivo.

Los anaerobios facultativos también crecen igual o mejor en condiciones anaerobias que en condiciones aerobias. A las bacterias anaerobias facultativas con frecuencia se les denomina "aerobias". Cuando se encuentra un anaerobio facultativo, como *Escherichia coli*, en el sitio infectado (p. ej., absceso abdominal) puede consumir con rapidez todo el oxígeno disponible y cambiar a metabolismo anaerobio, para producir un ambiente anaerobio y bajo E_h y así permitir que las bacterias anaerobias presentes crezcan y causen enfermedad.

BACTERIAS ANAEROBIAS PRESENTES EN INFECCIONES EN HUMANOS

Existen más de 30 géneros y 200 especies de anaerobios, y para muchas de ellas aún no se define un nombre. La clasi-

Cuadro 22-1. Bacterias anaerobias de importancia clínica

Géneros	Sitio anatómico
Bacilos (bastoncillos)	
Gramnegativos	
Grupo <i>Bacteroides fragilis</i>	Colon
Grupo <i>Prevotella melaninogenica</i>	Boca
<i>Fusobacterium</i>	Boca, colon
Grampositivos	
<i>Actinomyces</i>	Boca
<i>Lactobacillus</i>	Vagina
<i>Propionibacterium</i>	Piel
<i>Eubacterium</i> , <i>Bifidobacterium</i>	Boca, colon
y <i>Arachnia</i>	
<i>Clostridium</i>	Colon ¹
Cocos (esféricos)	
Grampositivos	
<i>Peptostreptococcus</i>	Colon
Gramnegativos	
<i>Veillonella</i>	Boca, colon

¹ También se encuentra en el suelo

ficación de los anaerobios evoluciona continuamente. La nomenclatura empleada en este capítulo se refiere a géneros de anaerobios observados con frecuencia en las infecciones en humanos y a ciertas especies reconocidas como patógenos importantes para el hombre. En el cuadro 22-1 se presentan los anaerobios observados comúnmente en las infecciones humanas.

Anaerobios gramnegativos

A. Bacilos gramnegativos

1. **Bacteroides:** las especies de bacteroides son anaerobios muy importantes causantes de infección en humanos. Forman un vasto grupo de bacilos gramnegativos y pueden presentarse como bacilos delgados o cocobacilos. Muchas especies incluídas antes en el género bacteroides se han reclasificado a los géneros prevotella o en los géneros porfiromonas.

Las especies de bacteroides son habitantes normales del intestino y otros sitios. Normalmente las heces contienen microorganismos en número de 10^{11} /g de *B. fragilis* (comparado con 10^6 /g para anaerobios facultativos). Los miembros aislados con más frecuencia pertenecen al grupo del *B. fragilis* (*B. fragilis*, *B. ovatus*, *B. distasonis*, *B. vulgatus*, *B. thetaiotaomicron*, y otros), en particular en las infecciones relacionadas con la contaminación por el contenido del colon, donde pueden causar supuración; por ejemplo, peritonitis después de lesión intestinal. La clasificación se basa en las características bioquímicas y de las colonias, y en los patrones de los ácidos grasos de cadena corta en la cromatografía de gases.

En la infección (p. ej., absceso intraabdominal), las especies de bacteroides con frecuencia se acompañan de otros microorganismos anaerobios, en particular cocos anaerobios (peptostreptococos), bacilos anaerobios grampositivos (clostridios) y eubacterias,

así como anaerobios facultativos grampositivos y gramnegativos que forman parte de la flora normal.

2. **Prevotella:** las especies de prevotella son bacilos gramnegativos y pueden presentarse como bacilos delgados o cocobacilos. Prevotella incluye especies recién denominadas y algunas que antes se clasificaron como especies Bacteroides (p. ej., la *Prevotella melaninogenica* antes se llamó *Bacteroides melaninogenicus*). Las aisladas con más frecuencia son *P. melaninogenica*, *P. bivia* y *P. disiens*; y en las infecciones del aparato respiratorio superior se encuentran especies similares. La *P. bivia* y *P. disiens* se aíslan del aparato genital femenino. Las especies de prevotella se aíslan de los abscesos cerebrales y pulmonares, en el empiema, en la enfermedad inflamatoria pélvica y en los abscesos tuboováricos.

En estas infecciones, las prevotella frecuentemente se acompañan de otros microorganismos anaerobios que forman parte de la flora normal (en particular peptostreptococo, bacilos anaerobios grampositivos y especies de fusobacterias), así como de anaerobios facultativos grampositivos y gramnegativos que son parte de la flora normal.

3. **Porfiromonas:** las especies de porfiromonas también son bacilos gramnegativos de la flora normal de la boca y se presentan en otros sitios anatómicos. El género porfiromonas incluye especies recién denominadas y especies que previamente se incluyeron en el género bacteroides. Las especies de porfiromonas pueden cultivarse de infecciones gingivales y periapicales dentarias y, más comúnmente, de infecciones mamarias, axilares, perianales y de los genitales masculinos.
4. **Fusobacterias:** las fusobacterias son bacilos grampositivos pleomórficos. La mayor parte de las especies producen ácido butírico y convierten la treonina en ácido propiónico. El grupo de fusobacterias incluye varias especies aisladas con frecuencia de las infecciones bacterianas mixtas causadas por la flora normal de las mucosas. En ocasiones una especie de fusobacterias es la única bacteria en una infección (p. ej., osteomielitis).

B. Cocos gramnegativos

Las especies de veillonella pertenecen a un grupo de cocos pequeños, anaerobios y gramnegativos que forman parte de la flora normal de la boca, nasofaringe y tal vez del intestino. Antes se les conoció con diferentes nombres, ahora se les denomina colectivamente veillonellas. Aunque en ocasiones se aíslan de infecciones anaerobias polimicrobianas, pocas veces son causa única de una infección.

Anaerobios grampositivos

A. Bacilos grampositivos

1. **Actinomicetos:** el grupo actinomicetos incluye varias especies que causan actinomicosis, de las cuales *Actinomyces israelii* es el aislado con mayor frecuencia. En la tinción de Gram varían mucho de longitud. Pueden ser cortos y en forma de raqueta o filamentos largos delgados como rosarios. Pueden ser ramificados o no ramificados. Puesto que con frecuencia crecen lentamente, a veces es necesario prolongar la incubación del cultivo

antes que el laboratorio pueda confirmar un diagnóstico clínico establecido como actinomicosis. Algunas cepas producen colonias sobre agar que semejan los dientes molares. Ciertas especies de actinomicos toleran el oxígeno (aerotolerantes) y crecen en presencia de aire; estas cepas a veces se confunden con especies de corinebacterias (difteroides; véase capítulo 13). Las especies de actinomicos son susceptibles a la penicilina G, eritromicina y otros antibióticos.

2. **Lactobacilos:** las especies de *Lactobacillus* son miembros importantes de la flora normal de la vagina. El ácido láctico producto de su metabolismo ayuda a mantener bajo el pH del aparato genital femenino adulto normal. Pocas veces causan enfermedad.
3. **Propionibacterias:** las especies de *Propionibacterias* son miembros de la flora normal de la piel y causan enfermedad cuando infectan derivaciones y dispositivos de plástico. Sus productos metabólicos incluyen ácido propiónico, del cual deriva su nombre. En la tinción de Gram son muy pleomórficos y muestran extremos curvos, aplanados o puntiagudos; formas largas con tinción irregular en rosario, y en ocasiones formas esféricas o cocoides. Las propionibacterias participan en la génesis del acné. Como parte de la flora normal de la piel, el *Propionibacterium acnes* contamina a veces los cultivos de sangre o de líquido cefalorraquídeo obtenidos a través de la piel. Por tanto, es importante (pero a veces difícil) diferenciar un cultivo contaminado de uno que es positivo e indica infección.
4. **Eubacterium, Bifidobacterium y Arachnia:** estos tres géneros están formados por bacilos anaerobios pleomórficos y grampositivos. Existen varias especies. Se encuentran en las infecciones mixtas asociadas con la flora bucofaringea o del intestino.
5. **Clostridium:** los clostridios son bacilos grampositivos formadores de esporas (véase capítulo 12). Hay más de 50 especies. Las principales enfermedades vinculadas con estas bacterias se producen por exotoxinas (véase capítulo 9).

Las esporas del *Clostridium tetani* causantes del tétanos se encuentran en el ambiente. Germinan en tejido desvitalizado con un E_h de +10 mV (en tejidos normales con +120 mV). Los microorganismos en desarrollo elaboran la toxina tetanospasmina. La infección es localizada y con frecuencia insignificante desde el punto de vista clínico. La toxina se propaga por el trayecto de los nervios hasta el sistema nervioso central, donde se une a gangliosidos, suprime la liberación de neurotransmisores inhibidores y causa espasmo muscular. La muerte se produce por incapacidad para respirar. Evidentemente, un traumatismo grave puede predisponer al desarrollo de tétanos; sin embargo, más de 50% de los casos de tétanos es consecuencia de lesiones menores. El tétanos es totalmente prevenible: la inmunidad activa se induce con toxoide tetánico (toxina tetánica tratada en formol). La administración de toxoide tetánico es parte de las inmunizaciones sistemáticas con DPT en la infancia (difteria, tétanos, tos ferina); a los adultos se les deben administrar refuerzos cada 10 años.

El *Clostridium botulinum* causa botulismo (véanse capítulos 9 y 12). El *C. botulinum* se distribuye en todo

el ambiente. Las esporas se alojan en alimentos en conserva o enlatados con escasa concentración de oxígeno, bajo E_h y nutrientes que apoyan su crecimiento. Los microorganismos germinan y elaboran las toxinas conforme crecen y sufren lisis. Las neurotoxinas botulínicas son las toxinas más potentes conocidas, pero se pueden neutralizar mediante anticuerpos específicos. Las toxinas son termolábiles; por tanto, los alimentos calentados de manera apropiada no transmiten el botulismo. La toxina botulínica preformada se absorbe luego de ingerida. La toxina actúa sobre el sistema nervioso periférico inhibiendo la liberación de acetilcolina en las sinapsis colinérgicas y causando parálisis. Una vez que la toxina se enlaza, el proceso es irreversible. Los síntomas se relacionan con la acción anticolinérgica e incluyen disfagia, sequedad de boca, diplopía y debilidad o incapacidad para respirar. El botulismo debe tratarse con antitoxina. El botulismo infantil se debe a la ingestión de esporas, germinación de las mismas y producción de toxina; la miel envasada es un vehículo común para la transmisión de las esporas a los lactantes.

El *Clostridium perfringens* causa gangrena gaseosa. Existen al menos 12 antígenos solubles diferentes, muchos de ellos son toxinas. Todos los tipos de *C. perfringens* producen toxina α , una exotoxina necrosante y hemolítica, que es una lecitinasa. Las otras toxinas muestran varias actividades, las cuales incluyen necrosis tisular y hemólisis. El *C. perfringens* se encuentra en todo el ambiente. La gangrena gaseosa se presenta cuando una herida del tejido blando se contamina con el *C. perfringens*, como ocurre en el traumatismo, aborto séptico y heridas de guerra. La bacteriemia vinculada con el *C. perfringens* puede ser rápidamente mortal. También se han observado variantes más leves de la enfermedad. Una vez iniciada la infección, los microorganismos elaboran toxinas necrosantes: se acumulan CO_2 y H_2 en los tejidos que clínicamente se detectan como gas (es decir, gangrena gaseosa). Otros procesos infecciosos producen gas en los tejidos y deben ser diferenciados de la gangrena gaseosa clostridial. Entre estas infecciones están la mionecrosis estreptocócica anaeróbica, la mionecrosis anaeróbica no clostridial sinérgica, la gangrena vascular infectada y la mionecrosis por *Aeromonas hydrophila*. Se presentan edema y deficiencia circulatoria, los cuales favorecen la propagación de la infección anaeróbica. La terapéutica implica la remoción quirúrgica de la porción infectada y la administración de penicilina G.

El *C. perfringens* es causa común de envenenamiento alimentario (pero menos que el *Staphylococcus aureus*). Una enterotoxina producida y liberada durante la esporulación causa la enfermedad. El periodo de incubación para que aparezcan dolor abdominal, náuseas y diarrea aguda es de 8 a 24 h.

El *Clostridium difficile* produce colitis pseudomembranosa. Es parte de la flora normal gastrointestinal en 2 a 10% de los humanos. Los microorganismos son relativamente resistentes a los antibióticos usados con mayor frecuencia. Después o durante el uso de antibióticos, la flora gastrointestinal normal desaparece y el *C. difficile* prolifera, produce toxina citopática y ente-

rotoxina. Los síntomas de la enfermedad varían desde diarrea simple hasta diarrea intensa con necrosis de la mucosa y acumulación de células inflamatorias y fibrina que forma pseudomembranas. El diagnóstico se establece al demostrar la citotoxina neutralizable en las heces por medio de los efectos citopáticos en el cultivo de células, o al detectar la enterotoxina mediante inmunanálisis.

En ocasiones se encuentran otras especies de clostridios en infecciones polimicrobianas, en particular las que se relacionan con contaminación de los tejidos normales por el contenido del colon.

B. Cocos grampositivos

Las especies de peptostreptococos son cocos grampositivos de tamaño y forma variables, que se encuentran sobre la piel y como parte de la flora normal de las mucosas. Existen muchas especies, incluso las antes denominadas peptococos. Con frecuencia aparecen en las infecciones mixtas debidas a flora normal. En ocasiones, el cultivo de las infecciones mamarias, cerebrales o pulmonares resulta positivo para una sola especie de estos cocos grampositivos.

PATOGENIA DE LAS INFECCIONES ANAEROBIAS

Las infecciones causadas por anaerobios comúnmente se deben a combinaciones de bacterias que funcionan en patogenicidad sinérgica. Aunque los estudios de la patogenia de las infecciones anaeróbicas casi siempre se centran en una sola especie, es importante reconocer que las infecciones anaeróbicas más frecuentes son causadas por varias especies de anaerobios que actúan en conjunto para producir la infección.

El *B. fragilis* es el patógeno más importante entre los anaerobios que forman parte de la flora normal. La patogenia de la infección anaeróbica se ha estudiado extensamente con *B. fragilis* mediante un modelo de infección intraabdominal en ratas, que en muchos aspectos imita la enfermedad humana. Después que el contenido del colon (que incluye *B. fragilis* y anaerobios facultativos como *E. coli*) se coloca en el abdomen de la rata por medio de una aguja, cápsula de gelatina u otro medio, se presenta una secuencia característica. Un gran porcentaje de los animales estudiados muere por septicemia debida al anaerobio facultativo. Sin embargo, si los animales se tratan primero con gentamicina (un fármaco eficaz contra anaerobios facultativos pero no contra bacteroides) pocos animales mueren y después de unos cuantos días los animales sobrevivientes desarrollan absceso intraabdominal causado por infección con bacteroides. El tratamiento de los animales con gentamicina y clindamicina, un fármaco eficaz contra los bacteroides, evita tanto la septicemia inicial como el desarrollo tardío del absceso abdominal.

Los polisacáridos capsulares de los bacteroides son factores importantes de virulencia. Cuando en el abdomen de la rata se inyectan polisacáridos capsulares purificados procedentes del *B. fragilis*, causan formación de abscesos, mientras los polisacáridos procedentes de otras bacterias (p. ej., *Streptococcus pneumoniae* y *E. coli*) no los forman. Aún no se comprende bien el mecanismo mediante el cual la cápsula de *B. fragilis* induce la formación de absceso.

Las especies de bacteroides poseen lipopolisacáridos (endotoxinas; véase capítulo 9), pero carecen de estructuras lipopolisacáridas con actividad endotóxica (incluso ácido β hidroximirístico). Los lipopolisacáridos del *B. fragilis* son mucho menos tóxicos que los de otras bacterias gramnegativas. Por tanto, la infección causada por bacteroides no produce directamente signos clínicos de la septicemia (p. ej., fiebre y choque) tan importantes en las infecciones causadas por otras bacterias gramnegativas. Cuando estos signos clínicos se presentan en las infecciones por bacteroides se deben a la respuesta inmunitaria inflamatoria a la infección.

El *B. fragilis* produce una superóxido dismutasa y puede sobrevivir en presencia de oxígeno durante varios días. Cuando un anaerobio facultativo como la *E. coli* se encuentra en el sitio de la infección, puede consumir todo el oxígeno disponible y, por tanto, producir un ambiente en el cual pueden crecer bacteroides y otros anaerobios (véase antes).

Muchas bacterias anaerobias producen heparinasas, colagenasas y otras enzimas que dañan o destruyen los tejidos. Es probable que estas enzimas desempeñen una función en la patogenia de las infecciones anaeróbicas mixtas, aunque experimentos de laboratorio no han podido definir las funciones específicas.

INMUNIDAD EN LAS INFECCIONES POR ANAEROBIOS

Se sabe poco acerca de la inmunidad en las infecciones por anaerobios. La información más completa proviene de los estudios de infecciones por *B. fragilis* en animales.

Muchos anaerobios (incluso bacteroides, Propionibacterias y especies de fusobacterias) producen factores quimiotácticos independientes del suero que atraen las células polimorfonucleares. La cápsula del *B. fragilis* es antígenica e inhibidora de la acción bactericida mediada por el complemento. Las especies de bacteroides se fagocitan de manera óptima por las células polimorfonucleares cuando los microorganismos se oponizan por anticuerpo y complemento simultáneamente. Tanto animales como humanos producen anticuerpos contra antígenos de los bacteroides, incluso el material capsular. La transferencia pasiva de anticuerpos a animales no inmunes a partir de animales inmunes protege contra la bacteriemia por bacteroides, pero no evita la formación del absceso abdominal; en el modelo de infección en rata, hay una respuesta inmunitaria dependiente de las células T que impide la formación del absceso. En el modelo de la rata la transferencia pasiva de células esplénicas inmunitarias o de un factor de bajo peso molecular libre de células evita la formación del absceso abdominal.

NATURALEZA POLIMICROBIANA DE LAS INFECCIONES ANAEROBIAS

La mayor parte de las infecciones anaerobias se relaciona con la contaminación del tejido por flora normal de las mu-

cosas de boca, faringe y de los aparatos gastrointestinal o genital. Es característico encontrar múltiples especies (5, 6 o más especies cuando se emplean condiciones estándar de cultivo), incluso anaerobios y anaerobios facultativos. Las infecciones bucofaringeas, pleuropulmonares, abdominales y pélvicas femeninas relacionadas con la contaminación por la flora normal de la mucosa muestran una distribución relativamente igual de anaerobios y anaerobios facultativos como agentes causales: casi 25% muestran sólo anaerobios; otro 25%, sólo anaerobios facultativos; y alrededor de 50% muestran anaerobios y anaerobios facultativos. También pueden presentarse bacterias aerobias, pero las aerobias obligadas son mucho menos comunes que los anaerobios y los anaerobios facultativos. En el cuadro 22-2 se presentan las bacterias anaerobias y las infecciones representativas vinculadas con éstas.

DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES ANAEROBIAS

Los signos clínicos sugerentes de una posible infección con anaerobios incluyen los siguientes:

- 1) Secreción fétida (debido a los productos del metabolismo anaerobio de los ácidos grasos de cadena corta).
- 2) Infección en la proximidad de una superficie mucosa (los anaerobios son parte de la flora normal).
- 3) Gas en los tejidos (producción de CO_2 y H_2).
- 4) Cultivo aerobio negativo.

El diagnóstico de infección por anaerobios se establece mediante cultivo de anaerobios en muestras obtenidas y transportadas de manera apropiada (véase capítulo 47). Los

anaerobios crecen con mayor facilidad sobre medios complejos, basados en agar soya triptica, agar sangre de Schaeffer, agar brucela, agar con infusión de cerebro-corazón, y otros: cada uno muy complementado (p. ej., con hemina, vitamina K_1 , sangre). Paralelamente se emplea un medio selectivo complejo con kanamicina. La kanamicina (igual que todos los aminoglucósidos) no inhibe el crecimiento de los anaerobios obligados; por tanto, les permite proliferar sin ser superados por los anaerobios facultativos de crecimiento rápido. Los cultivos se incuban entre 35 a 37 °C en una atmósfera anaerobia que contenga CO_2 .

La morfología de la colonia, la pigmentación y la fluorescencia son útiles para identificar los anaerobios. Las actividades bioquímicas y la producción de ácidos grasos de cadena corta se cuantifican mediante cromatografía de fase gas-líquido empleada para la confirmación por laboratorio.

TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES ANAEROBIAS

El tratamiento de las infecciones anaeróbicas mixtas es con drenaje quirúrgico (en la mayor parte de las circunstancias), además de tratamiento antimicrobiano.

El grupo de microorganismos *B. fragilis* encontrado en las infecciones abdominales y otras, invariablemente produce β lactamasa, igual que muchas de las cepas de *P. bivia* y de *P. disiens* observadas en las infecciones del aparato genital superior en las mujeres. Es necesaria la terapéutica con antimicrobianos (diferentes de la penicilina G) para tratar infecciones con estos microorganismos. Casi dos terceras partes de las cepas de *P. melaninogenica* en las infecciones pulmonares y bucofaringeas también producen β lactamasa.

Los fármacos más activos para el tratamiento de las infecciones por anaerobios son clindamicina y metronidazol. La primera se elige para las infecciones por arriba del diafragma. Pocos anaerobios son resistentes a la clindamicina y menos aún, si acaso alguno, al metronidazol. Los fármacos alternos incluyen cefoxitina, cefotetan, algunas cefalosporinas más recientes, y mezlocilina y piperacilina, pero estos fármacos no son tan activos como la clindamicina y el metronidazol. La penicilina G aún es el fármaco de elección para el tratamiento de las infecciones con anaerobios que no incluyen especies de bacteroides y de prevotella productoras de β lactamasa.

Cuadro 22-2. Bacterias anaerobias e infecciones representativas relacionadas

Absceso cerebral
Peptoestreptococos y otros
Infecciones bucofaringeas
Anaerobios bucofaringeos; actinomicos, <i>Prevotella melaninogenica</i> , especies de fusobacterias
Infecciones pleuropulmonares
Peptoestreptococos; especies de fusobacterias; <i>P. melaninogenica</i> , <i>B. fragilis</i> en 20 a 25%; otras
Infecciones intraabdominales
Absceso hepático: anaerobios mixtos en 40 a 90%; microorganismos facultativos
Absceso abdominal: <i>B. fragilis</i> ; otros de la flora gastrointestinal
Infecciones del aparato genital femenino
Abscesos vulvares: peptoestreptococos y otros
Abscesos tuboovárico y pélvico: <i>P. bivia</i> y <i>P. disiens</i> ; peptoestreptococos; otros
Infecciones de piel, tejido blando y de hueso
Flora anaerobia mixta
Bacteriemia
<i>B. fragilis</i> , peptoestreptococos, clostridios, propionibacterias; otras
Endocarditis
<i>B. fragilis</i>

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un hombre de 55 años de edad visita a su médico por un padecimiento de los aguda y producción de esputo purulento. Su aliento tiene un olor fétido muy desagradable. En la radiografía de tórax se observa una gran cantidad de líquido en el espacio pleural izquierdo y una cavidad pulmonar de 5 cm con un nivel de aire-líquido. Se inserta una aguja por la pared torácica y se elimina parte del líquido del espacio pleural: éste es espeso, de color amarillo grisáceo y maloliente. ¿Cuál de los siguientes organismos o conjuntos de organismos tienen más probabilidades de ser cultivados del líquido pleural?

- A. *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli* y enterococos
 - B. *Prevotella bivia*, peptoestreptococos y *Staphylococcus epidermidis*
 - C. *Prevotella melaninogenica*, especies de *Fusobacterium* y estreptococos viridans
 - D. Especies de *Propionibacterium*, peptoestreptococos y *Staphylococcus aureus*
 - E. *Streptococcus pneumoniae*
2. Un hombre de 23 años de edad tiene un absceso perirectal. Éste se drena quirúrgicamente. Se cultiva una muestra y se desarrollan bacterias anaerobias. Los indicios que hacen pensar en una infección con bacterias anaerobias son:
 - A. Cultivo anaeróbico negativo
 - B. Gas en tejidos
 - C. Proximidad a la superficie mucosa
 - D. Descarga con olor desagradable
 - E. Todas las anteriores
 3. Se publica un artículo que contiene datos acerca del requerimiento de oxígeno de bacterias aisladas de una serie grande de pacientes con infecciones pulmonares pleurales anaerobias. ¿Cuál es la distribución más probable de bacterias aerobias, anaerobias y anaerobias facultativas aisladas de estos pacientes?
 - A. Aerobios 25%, anaerobios 50% y aerobios facultativos 25%
 - B. Anaerobios 50% y anaerobios facultativos 50%
 - C. Anaerobios 25%, anaerobios y anaerobios facultativos 50% y anaerobios facultativos 25%
 - D. Anaerobios y anaerobios facultativos 50% y anaerobios 50%
 - E. Anaerobios 33% y anaerobios y anaerobios facultativos 67%
 4. Un hombre de 63 años de edad con diabetes se inyecta insulina de manera rutinaria en los músculos del muslo izquierdo. En fechas recientes se le ha presentado dolor intenso con hinchazón en el muslo izquierdo. En el examen el muslo aparece hinchado y rojo. En la palpación se nota crepitación, lo que indica gas en el tejido. El gas también es visible en los planos fasciales en la radiografía de la pierna. La gangrena gaseosa debida a *Clostridium perfringens* se considera un diagnóstico probable. ¿Qué otras infecciones se deben considerar?
 - A. Mionecrosis estreptocócica anaeróbica
 - B. Mionecrosis anaeróbica no clostridial sinérgica
 - C. Gangrena vascular infectada
 - D. Mionecrosis por *Aeromonas hydrophila*
 - E. Todas las anteriores

5. Un hombre de 18 años de edad padece fiebre con dolor en el cuadrante inferior izquierdo del abdomen. Después de la evaluación inicial es llevado a la sala de operaciones. En la intervención quirúrgica se encuentra un apéndice roto con un absceso. Del líquido del absceso se cultiva *Bacteroides fragilis*. ¿Cuál de los siguientes factores promueve la formación del absceso por *Bacteroides fragilis*?
 - A. Lipopolisacárido
 - B. Cápsula
 - C. Dismutasa de superóxido
 - D. Pili
 - E. Toxina de leucocidina

Respuestas: 1 = C; 2 = E; 3 = C; 4 = E; 5 = B

GLOSARIO

Anaerobios facultativos: bacterias que pueden crecer con metabolismo oxidativo al utilizar oxígeno como aceptor terminal de electrones, o en condiciones anaerobias, empleando reacciones de fermentación para obtener su energía. Estas bacterias son patógenos comunes. Las especies de estreptococos y las enterobacterias (p. ej., *Escherichia coli*) se encuentran entre los muchos anaerobios facultativos causantes de enfermedad. A las bacterias anaerobias facultativas con frecuencia se les denomina "aerobias".

Bacterias aerobias: requieren oxígeno como aceptor terminal de electrones y no crecen en condiciones anaerobias (es decir, en ausencia de O_2). Algunas especies de micrococos y de *Nocardia asteroides* son aerobios obligados (esto es, deben tener oxígeno para sobrevivir).

Bacterias anaerobias: no emplean oxígeno para su crecimiento y metabolismo, sino que obtienen su energía de reacciones de fermentación. Una definición funcional de anaerobios es que para su crecimiento requieren tensión reducida de oxígeno y no crecen sobre un medio sólido al aire libre y 10% de CO_2 . Las especies de bacteroides y de clostridios son ejemplos de anaerobios.

Bacterias capnofílicas: requieren dióxido de carbono para su crecimiento.

REFERENCIAS

- Allen SD, Emery CL, Lyster DM: *Clostridium*. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8ª ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Finegold SM: Anaerobic bacteria: general concepts. In: Mandell, Douglas, and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Jousimies-Somer HR et al.: *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, and other anaerobic gram-negative

bacteria. In: *Manual of clinical Microbiology*, 8ª ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.

- Moncla BJ, Hillier SL: *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, and other non-spore-forming anaerobic gram-positive bacteria. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.

Legionelas, bartonela y patógenos bacterianos poco frecuentes

LEGIONELLA PNEUMOPHILA Y OTRAS LEGIONELAS

Un brote de neumonía entre las personas que acudieron a la convención de la Legión Americana en Filadelfia motivó las investigaciones que definieron a la *Legionella pneumophila* y a las legionelas. Se han diagnosticado retrospectivamente otros brotes de enfermedad respiratoria causada por microorganismos relacionados desde 1947. Existen variadas decenas de especies de legionela, algunas con múltiples serotipos. *L. pneumophila* es la causa principal de enfermedad en humanos; la *Legionella micdadei* y otras pocas especies a veces causa neumonía. Las otras legionelas pocas veces se aíslan de los pacientes o sólo se han aislado del ambiente.

Morfología e identificación

La *L. pneumophila* es la bacteria prototipo del grupo. Las legionelas de importancia médica primaria se muestran en el cuadro 23-1.

A. Microorganismos típicos

Las legionelas son bacterias aerobias gramnegativas, exigentes en sus nutrientes con 0.5 a 1 µm de ancho y 2 a 50 µm de largo. Se tiñen escasamente con el método de Gram y no se observan en tinciones de muestras clínicas. Deben practicarse frotis teñidos con Gram cuando se sospecha crecimiento de legionelas sobre medio de agar. Debe utilizarse fucsina básica (0.1%) como colorante de contraste, puesto que la safranina tiñe muy poco la bacteria.

B. Cultivo

Las legionelas pueden crecer sobre medios complejos, como agar con extracto de levadura y carbón animal amortiguado (BCYE; del inglés *buffered charcoal-yeast extract*) con α cetoglutarato, a pH de 6.9, temperatura de 35 °C y 90% de humedad. Se pueden añadir antibióticos para hacer el medio selectivo a legionela. Para hemocultivo se puede utilizar un medio bifásico BCYE.

Las legionelas crecen lentamente; por lo general, las colonias visibles se presentan después de tres días de in-

Cuadro 23-1. Especies de legionela de importancia médica primaria

Especies	Neumonía	Fiebre de Pontiac
<i>L. pneumophila</i>	+	Serogrupos 1 y 6
<i>L. micdadei</i>	+	
<i>L. gormanii</i>	+	
<i>L. dumoffii</i>	+	
<i>L. bozemanii</i>	+	
<i>L. longbeachae</i>	+	
<i>L. wadsworthii</i>	+	
<i>L. jordanis</i>	+	
<i>L. feeleii</i>	+	+
<i>L. oakridgensis</i>	+	

cubación. Las colonias que aparecen después de la incubación durante una noche no son de legionela. Las colonias son redondas o aplanadas con bordes íntegros. Varían en color desde incoloras hasta rosa iridiscente o azul y son translúcidas o jaspeadas. La variación en la morfología de las colonias es común, y pueden perder rápidamente su color y sus manchas. Otros géneros de bacterias crecen sobre medio BCYE y deben diferenciarse de la legionela mediante tinción de Gram y otras pruebas.

En el hemocultivo, las legionelas por lo general requieren dos semanas o más para crecer. Se pueden observar las colonias sobre el agar en el medio bifásico.

C. Características del crecimiento

Las legionelas son catalasa-positivas. La *L. pneumophila* es oxidasa-positiva; las otras legionelas muestran actividad de oxidasa variable. La *L. pneumophila* hidroliza el hipurato; las otras legionelas no. La mayor parte de las legionelas producen gelatinasa y β lactamasa; la *L. micdadei*, no.

Antígenos y productos celulares

Se cree que la especificidad antigénica de la *L. pneumophila* se debe a estructuras antigénicas complejas. Existen más

de 10 serogrupos de *L. pneumophila*: el serogrupo 1 fue la causa del brote de 1976 de la enfermedad de los legionarios y aún es el serogrupo aislado con más frecuencia en humanos. Las especies de legionela no pueden identificarse sólo por los grupos serológicos, puesto que hay reactividad antígenica cruzada entre las diferentes especies. En ocasiones, los bacteroides, las bordetelas y algunas pseudomonas también reaccionan de manera cruzada con el anticuerpo de la *L. pneumophila*.

Las legionelas producen ácidos grasos con cadenas ramificadas en los carbonos 14 y 17 distintivos. Puede emplearse la cromatografía gas-líquido para caracterizar y determinar las especies de legionelas.

Las legionelas sintetizan proteasas, fosfatasa, lipasas, DNasa y RNasa. Una proteína secretoria importante (metaloproteasa) tiene actividad hemolítica y citotóxica; sin embargo, no se ha demostrado que esta proteína sea un factor necesario de virulencia.

Patología y patogenia

Las legionelas son ubicuas en ambiente húmedo y cálido. Las infecciones en humanos debilitados o inmunodeficientes comúnmente son consecuencia de la inhalación de las bacterias a partir de aerosoles generados en sistemas de aire acondicionado, regaderas para el baño y fuentes similares contaminadas. Por lo general, la *L. pneumophila* produce infiltración lobar segmentaria o en parches en el pulmón. Histológicamente, el aspecto es similar al producido por muchos otros patógenos bacterianos. La neumonía purulenta aguda que afecta los alveolos se presenta con un exudado intraalveolar denso de macrófagos, leucocitos polimorfonucleares, eritrocitos y material proteináceo. La mayor parte de las legionelas presentes en las lesiones se encuentra dentro de células fagocíticas. Hay poca infiltración intersticial e inflamación escasa o nula de los bronquiolos y vías respiratorias superiores.

El conocimiento de la patogenia de la infección por *L. pneumophila* proviene del estudio de células aisladas de humanos y del estudio de animales susceptibles, como cobayos.

La *L. pneumophila* ingresa con facilidad y crece dentro de macrófagos y monocitos alveolares humanos y no es destruida eficazmente por los leucocitos polimorfonucleares. *In vitro*, en presencia de suero, pero sin anticuerpos inmunitarios, el componente C3 del complemento se une a la superficie de las bacterias y la bacteria se acopla a los receptores CR1 y CR3 para complemento sobre la superficie de las células fagocíticas. El ingreso a la célula tiene lugar por un proceso fagocítico que implica el enrollamiento de un solo pseudópodo alrededor de la bacteria. En presencia de anticuerpos inmunitarios, el ingreso de la bacteria tiene lugar por una fagocitosis más típica mediada por Fc. Una vez en la célula, la bacteria individual se encuentra dentro de vacuolas fagosómicas, pero los mecanismos de defensa de los macrófagos se detienen en ese punto. Las vacuolas fagosómicas no se fusionan con los gránulos lisosómicos. La explosión metabólica oxidativa del fagocito se reduce. Los fagosomas que contienen *L. pneumophila* no se acidifican como los fagosomas que contienen otras partículas ingeridas. Alrededor de las vacuolas que contienen

L. pneumophila se acumulan ribosomas, mitocondrias y pequeñas vesículas. Las bacterias se multiplican dentro de las vacuolas hasta que se encuentran en gran número; destruyen la célula y las bacterias se liberan, entonces puede ocurrir la infección de otros macrófagos. Es indispensable la presencia de hierro (transferrina-hierro) para el proceso de crecimiento intracelular de la bacteria, pero otros factores importantes para el proceso de crecimiento, destrucción celular y daño a los tejidos aún no se entienden bien.

Datos clínicos

Es común la infección asintomática en todos los grupos de edad, como lo demuestran los aumentos de los títulos de anticuerpos específicos. La incidencia de la enfermedad clínicamente significativa es superior en hombres mayores de 55 años de edad. Los factores asociados con riesgo elevado incluyen tabaquismo, bronquitis crónica y enfisema, esteroides y otros tratamientos inmunosupresores (como el trasplante renal), quimioterapia del cáncer y diabetes mellitus. Si la neumonía se presenta en pacientes con estos factores de riesgo, se debe investigar legionela como causa.

La infección puede producir enfermedad febril vaga de corta duración, o enfermedad grave rápidamente progresiva con fiebre alta, escalofrío, malestar, tos no productiva, hipoxia, diarrea y delirio. La radiografía de tórax revela consolidación en placas con frecuencia multilobar. Pueden aparecer leucocitosis, hiponatremia, hematuria (e incluso insuficiencia renal) o anomalías de la función hepática. En algunos brotes, la tasa de mortalidad alcanza 10%. El diagnóstico se basa en el cuadro clínico y en la exclusión de otras causas de neumonía mediante pruebas de laboratorio. La demostración de la legionela en muestras clínicas puede establecer con rapidez un diagnóstico específico. También se puede llegar al diagnóstico mediante cultivo de legionela o pruebas serológicas, pero los resultados de estas pruebas casi siempre tardan más del plazo en el cual la terapéutica específica debe iniciarse.

La *L. pneumophila* también produce una enfermedad llamada "fiebre de Pontiac", por el síndrome clínico ocurrido en un brote en Michigan. El síndrome se caracteriza por fiebre y escalofríos, mialgia, malestar y cefalea, que se desarrollan en 6 a 12 h. También se presentan mareo, fotofobia, rigidez de cuello y confusión. Los síntomas respiratorios son mucho menos notables en la fiebre de Pontiac que en la enfermedad de los legionarios e incluyen tos leve y dolor faríngeo.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

En las infecciones humanas es posible aislar microorganismos del lavado bronquial, líquido pleural, muestra de biopsia pulmonar o de sangre. El aislamiento de legionela del esputo es más difícil debido al predominio de bacterias de la flora normal. La legionela rara vez se recupera de otros sitios anatómicos.

B. Frotis

La legionela no es demostrable en los frotis de muestras clínicas teñidos con coloración de Gram. Las pruebas di-

rectas de anticuerpos fluorescentes de las muestras pueden ser diagnósticas, pero la prueba tiene menor sensibilidad en comparación con el cultivo. A veces se emplean tinciones argentícas en las muestras de tejido.

C. Cultivo

Las muestras se cultivan sobre agar BCYE (véase antes). Los microorganismos cultivados pueden identificarse con rapidez mediante tinción con inmunofluorescencia. Para el cultivo de muestras contaminadas se puede usar agar BCYE con antibióticos.

D. Pruebas específicas

Algunas veces se pueden demostrar antígenos de legionela en la orina de los pacientes mediante métodos inmunitarios.

E. Pruebas serológicas

Las concentraciones de anticuerpos contra la legionela aumentan con lentitud durante la enfermedad. Las pruebas serológicas muestran una sensibilidad de 60 a 80% y una especificidad de 95 a 99%. Las pruebas serológicas son más útiles para obtener un diagnóstico retrospectivo en los brotes de infección por legionela.

Inmunidad

Los pacientes infectados forman anticuerpos contra legionela, pero la máxima respuesta de éstos no ocurre antes de 4 a 8 semanas después de la infección. La función de los anticuerpos y de la respuesta mediada por células en la inmunidad protectora no se ha definido en humanos. Los animales inoculados con retos antigénicos aplicando dosis subletales de la *L. pneumophila* virulenta, con *L. pneumophila* avirulenta, o con una vacuna de proteína secretoria principal, son inmunes a las dosis mortales subsecuentes de *L. pneumophila*. Se puede presentar respuesta tanto inmunitaria humoral como mediada por células. Esta última es importante en la inmunidad protectora debido a la infección y al crecimiento intracelulares de la legionela.

Tratamiento

Las legionelas son susceptibles a eritromicina y algunos otros fármacos. El tratamiento preferido es la eritromicina, eficaz aun en pacientes inmunodefectos. La rifampicina, 10 a 20 mg/kg/d, se utiliza en pacientes cuya respuesta al tratamiento se retrasa. A veces se requiere apoyo ventilatorio, y es indispensable el tratamiento del estado de choque.

Epidemiología y control

El hábitat natural para las especies legionela incluye unos cuantos lagos, arroyos, ríos y especialmente cuerpos de agua y tierra calentados termalmente. *L. pneumophila* sobrevive a temperaturas de hasta 63° C. Estos organismos sobreviven a los métodos clásicos de procesamiento del agua, ya que un número pequeño de ellos penetra los sistemas distribuidores de agua, donde proliferan. Las legionelas cre-

cen mejor en agua tibia en presencia de amibas y bacterias acuáticas. Tienen la capacidad para proliferar en amibas de la misma manera que lo hacen en los macrófagos pulmonares. Las torres de enfriamiento y los condensadores evaporadores podrían encontrarse densamente contaminados con *L. pneumophila*. Se piensa que los aerosoles emitidos por tales torres o condensadores diseminan los organismos a personas susceptibles; de manera similar existe una fuerte relación entre la contaminación de los sistemas de agua residenciales y la enfermedad de los legionarios adquirida en la comunidad, así como entre la contaminación de los sistemas de agua hospitalarios y la infección nosocomial por *L. pneumophila*. La hipercloración y el sobrecalentamiento del agua pueden ayudar a controlar la multiplicación de legionelas en el agua y en los sistemas de aire acondicionado.

BARTONELLA

Las tres especies del género bartonella importantes desde el punto de vista médico son: *Bartonella bacilliformis*, causa la fiebre de Oroya y la verruga peruana; *Bartonella quintana*, causa de la fiebre de las trincheras en la Primera Guerra Mundial y algunos casos de angiomatosis bacilar; y *Bartonella henselae*, causa la fiebre por arañazo de gato y se le ha vinculado también con angiomatosis bacilar. Estas enfermedades tienen muchas características comunes. Hay un conjunto pequeño adicional de especies de bartonella y subespecies que rara vez han sido relacionadas con enfermedad humana, y hay un conjunto más grande relacionado con animales que no es probable que se transmita a los humanos.

Las especies de bartonella son bacilos gramnegativos pleomórficos de crecimiento lento y difíciles de aislar en el laboratorio. Se pueden observar en los tejidos infectados teñidos con impregnación argéntica de Warthin-Starry.

Bartonella bacilliformis

En la infección por *Bartonella bacilliformis* existen dos etapas: la etapa inicial es la fiebre de Oroya, una anemia infecciosa grave; y la etapa eruptiva, verruga peruana, que comúnmente se inicia 2 a 8 semanas después, aunque las verrugas también pueden aparecer en ausencia de la fiebre de Oroya.

La fiebre de Oroya se caracteriza por el rápido desarrollo de anemia grave debida a la destrucción de eritrocitos, hipertrofias de bazo e hígado y a la hemorragia en ganglios linfáticos. Masas de bartonella llenan el citoplasma de las células que revisten los vasos sanguíneos, y la inflamación del endotelio puede conducir a oclusión vascular y trombosis. La tasa de mortalidad de la fiebre de Oroya no tratada es de casi 40%. El diagnóstico se establece con el examen de los frotis de sangre teñidos y mediante hemocultivo en medio semisólido.

La verruga peruana consiste en lesiones vasculares cutáneas que se presentan en brotes sucesivos; dura casi un año y produce poca reacción sistémica, sin muerte. En los granulomas se pueden observar las bartonella; el hemocultivo con frecuencia es positivo, pero no hay anemia.

La *B. bacilliformis* produce una proteína que favorece la deformidad (indentación) de la membrana celular de los eritrocitos, y los flagelos suministran al microorganismo la fuerza mecánica para invadirlos. La *B. bacilliformis* también invade *in vitro* las células endoteliales y otros tipos de células humanas.

La bartonelosis se limita a regiones montañosas de los Andes en la porción tropical de Perú, Colombia y Ecuador, y se transmite por moscas (*Phlebotomus* y *Lutzomyia*).

La *B. bacilliformis* crece en agar nutriente semisólido que contenga 10% de suero de conejo y 0.5% de hemoglobina. Después de 10 o más días de incubación a 28 °C se desarrolla turbidez en el medio, y se pueden observar microorganismos granulares en forma de bacilos en los frotis teñidos con colorante Giemsa.

La penicilina, la estreptomycinina y el cloranfenicol son eficaces en la fiebre de Oroya y reducen mucho la tasa de mortalidad, en particular cuando se administran también transfusiones de sangre. El control de la enfermedad depende de la eliminación del vector: pueden ser valiosos los insecticidas y repelentes de insectos y la eliminación de áreas donde las moscas se crían. La prevención con antibióticos a veces es útil.

Bartonella henselae y Bartonella quintana

A. Enfermedad por arañazo de gato

La enfermedad por arañazo de gato por lo general es una enfermedad benigna autolimitada, que se manifiesta por linfadenopatía desarrollada casi dos semanas después de contacto con un gato (por lo general, arañazo, lamida, mordedura; o quizá picadura por las pulgas de dicho animal). Después de 3 a 10 días del contacto se desarrolla en el sitio una lesión cutánea primaria (pápula o pustula). En general, el paciente parece sano, pero puede presentar fiebre de poca intensidad y en ocasiones cefalea, dolor faríngeo o conjuntivitis. Los ganglios linfáticos regionales están muy hipertrofiados y a veces dolorosos, y este estado puede persistir durante varias semanas o meses. En ocasiones, los ganglios supuran y presentan secreción purulenta. En EUA se presentan alrededor de 20 000 casos al año.

El diagnóstico de la fiebre por arañazo de gato se basa en 1) historia y datos sugerentes; 2) aspiración de pus proveniente de los ganglios linfáticos, el cual contiene bacterias no cultivables por los métodos de rutina, y 3) datos histopatológicos característicos en las lesiones granulomatosas, que a veces incluyen bacterias observadas con las tinciones de impregnación argéntica. También se ha incluido como criterio una prueba cutánea positiva. Un título de 1:64 o mayor en una sola muestra de suero en la prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes apoya fuertemente el diagnóstico, pero el desarrollo de títulos diagnósticos a veces se retrasa.

La enfermedad por arañazo de gato tiene como causa la *B. henselae*, un pequeño bacilo pleomórfico gramnegativo que se encuentra en las paredes de los capilares cercanos a la hiperplasia folicular o dentro de los microabscesos. Los microorganismos se observan mejor en los cortes de tejidos teñidos con impregnación argéntica de Warthin-Starry; también se pueden detectar mediante tinción inmunofluo-

rescente. En general, para esta enfermedad relativamente benigna no se recomienda el cultivo de la *B. henselae*.

El reservorio de la *B. henselae* es el gato doméstico, y pueden estar infectados una tercera parte o más de los gatos (y tal vez sus pulgas). Se cree que el contacto de los gatos infectados con las lesiones cutáneas transmite la infección.

La enfermedad por arañazo de gato es común en personas inmunocompetentes y en general es autolimitada. El tratamiento es principalmente de apoyo tranquilizando al paciente, paños húmedos calientes y analgésicos. La aspiración de pus o la extirpación quirúrgica de algún ganglio linfático hipertrofico pueden aliviar los síntomas. La tetraciclina o la eritromicina son útiles en la terapéutica.

B. Angiomatosis bacilar

La angiomatosis bacilar es una enfermedad predominantemente de personas inmunodeficientes, en particular los pacientes con SIDA. Ocurren casos raros en personas inmunocompetentes. La angiomatosis bacilar se caracteriza, desde el punto de vista histopatológico, por lesiones circunscritas con proliferación capilar lobular y vasos abiertos con células endoteliales cuboidales que sobresalen en la luz vascular. Un dato importante es el de histiocitos epitelioideos rodeados por una matriz laxa fibrinóide. Los bacilos pleomórficos pueden observarse en el tejido subendotelial cuando se tiñen con impregnación argéntica de Warthin-Starry. Las lesiones a veces están infiltradas por leucocitos polimorfonucleares.

En su variedad común, la angiomatosis bacilar se presenta como una pápula eritematosa en crecimiento (semejante a una cereza), con frecuencia rodeada de eritema y escamas. Las lesiones crecen y pueden alcanzar varios centímetros de diámetro y ulcerarse. Las lesiones pueden ser únicas o múltiples. En los pacientes con SIDA el aspecto clínico casi siempre es similar al del sarcoma de Kaposi, pero las dos enfermedades son diferentes desde el punto de vista histológico. La angiomatosis bacilar se presenta prácticamente en todo órgano. La afección del hígado (y bazo) se caracteriza por una proliferación de espacios quísticos llenos de sangre y rodeados por una matriz fibrinóide que contiene las bacterias; esta variedad de la enfermedad se denomina *peliosis hepática* y por lo general se acompaña de fiebre, pérdida de peso y dolor abdominal. También se ha observado una variedad bacteriémica de infección con signos inespecíficos de fiebre, pérdida de peso y dolor abdominal.

El diagnóstico se confirma por datos histopatológicos característicos y demostración de bacilos pleomórficos en los cortes teñidos con plata. La *B. henselae* y la *B. quintana* pueden aislarse mediante cultivo directo de biopsias del tejido afectado, cuidadosamente obtenidas de modo que no se encuentren bacterias cutáneas contaminantes. Las muestras para biopsia se homogeneizan en medio de cultivo de tejidos complementado y se inoculan sobre agar chocolate fresco y en agar de infusión de corazón con 5% de sangre de conejo. Los hemocultivos obtenidos por el método de lisis-centrifugación pueden inocularse sobre el mismo medio. El cultivo debe incubarse en 5% de CO₂ a 36 °C durante un mínimo de tres semanas. También se pueden cultivar muestras sobre monocapas de cultivo de tejido eucarionte. Bioquímicamente la *B. henselae* y la *B. quintana* son relativamente inertes, incluso con pruebas de reacciones negativas a catalasa y oxidasa, y pruebas de utilización de carbohi-

un actinomiceto grampositivo no relacionado estrechamente con género alguno conocido. El microorganismo se ha denominado tentativamente *Tropheryma whippelii*. El diagnóstico de la enfermedad de Whipple es mediante amplificación de la PCR de una muestra apropiada (biopsia de intestino, biopsia de cerebro, etc.) en busca de *T. whippelii*.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Un hombre de 70 años de edad llega a la sala de urgencias sintiéndose con fiebre y "realmente cansado". El paciente padece tos crónica por fumar, pero ha aumentado de forma drástica en la semana pasada y le ha producido esputo blanquecino. El día anterior tuvo una temperatura de 38 °C y diarrea acuosa. El examen físico revela sibilancias inspiratorias y espiratorias y estertores en el área pulmonar inferior derecha. En la radiografía de tórax se observa un infiltrado irregular del lóbulo inferior derecho. El diagnóstico diferencial de la neumonía de este paciente es:
 - Neumonía por *Streptococcus pneumoniae*
 - Neumonía por *Legionella pneumophila*
 - Neumonía por *Haemophilus influenzae*
 - Neumonía por *Mycoplasma pneumoniae*
 - Todas las anteriores
 - En los cultivos de esputo rutinarios para el paciente de la pregunta 1 se desarrolla flora normal. El tratamiento con ampicilina durante dos días no produce mejoría. Se considera un diagnóstico de la enfermedad de los legionarios y se realiza broncoscopia para obtener líquido de lavado alveolar bronquial y muestras de vías respiratorias profundas. De lo que se menciona a continuación, ¿qué haría pensar en un diagnóstico de enfermedad debido al serotipo 1 de *Legionella pneumophila*?
 - Estudio de antígeno urinario de legionela
 - Anticuerpo fluorescente directo en el líquido de lavado alveolar bronquial
 - Cultivo del lavado alveolar bronquial en el medio de extracto de levadura y carbón vegetal con antibióticos
 - Estudio de anticuerpo en sueros emparejados (fase aguda y fase convaleciente)
 - Todos los anteriores
 - Un factor importante en la patogénesis de la enfermedad de los legionarios es que:
 - Legionella pneumophila* elimina células polimorfonucleares
 - El macrófago alveolar fagocita a *Legionella pneumophila* por medio de un pseudópodo espiral
 - Legionella pneumophila* invade los capilares pulmonares, lo que produce diseminación y enfermedades sistémicas
 - Legionella pneumophila* induce a los fagosomas macrófagos alveolares a fundirse con los lisosomas
 - Legionella pneumophila* invade células que revisten a los alvéolos
4. En una niña de 11 años se presenta el inicio agudo de fiebre, cefalea, vómito y artralgias migratorias intensas (dolor de las articulaciones) y mialgias (dolor muscular). Dos días después, la paciente presentó exantema maculopapular en las palmas, plantas de los pies y extremidades. Al mismo tiempo, la paciente manifestó dolor intenso e hinchazón en la rodilla izquierda. En el examen, se demostró que había líquido en la rodilla. La información adicional reveló que la paciente tenía como animal de compañía una rata, con la que jugaba de forma frecuente. El cultivo del líquido de la rodilla de la paciente en agar de sangre de camello al 5% mostró colonias de 2 mm parecidas a algodón después de tres días de incubación. El cultivo en caldo mostró un crecimiento en forma de hongo. En la tinción de Gram se observó un bacilo gram-negativo de 0.5 µm de ancho y 1 a 4 µm de largo. Se observaron también formas demasiado largas (hasta 150 µm) con cadenas con forma similar a cuentas, abultamientos fusiformes y grandes cuerpos redondos. El microbiólogo que observó el cultivo con la tinción de Gram de inmediato supo que la causa de la infección de la niña era:
- Treponema pallidum*
 - Streptobacillus moniliformis*
 - Francisella tularensis*
 - Bartonella bacilliformis*
 - Yersinia pestis*
5. Una mujer de 28 años de edad llegó a la clínica por presentar flujo vaginal gris blanquecino con mal olor, observada por vez primera seis días antes. La paciente había tenido relaciones sexuales el mes pasado con un solo compañero recién conocido. En el examen físico se observó flujo de poca densidad, homogénea, de color gris blanquecino adherido a la pared vaginal. No hubo flujo del orificio cervical. El examen pélvico bimanual fue normal, al igual que el resto del examen físico. El pH del líquido vaginal fue 5.5 (normal, < 4.5). Cuando se agregó KOH al líquido vaginal en una placa, se percibió un olor parecido al de las aminas ("a pescado"). En un portaobjetos humedecido con el líquido se observaron muchas células epiteliales con bacterias adheridas (células de señal). No se observaron células polimorfonucleares. El diagnóstico fue:
- Gonorrea
 - Vaginitis por tricomonas
 - Sífilis
 - Vaginitis por levadura
 - Vaginosis bacteriana

Respuestas: 1 = E; 2 = E; 3 = B; 4 = B; 5 = E

REFERENCIAS

- Hart G: Donovanosis. Clin Infect Dis 1997;25:24.
- Muder RR: Other *Legionella* species. In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Slater LN, Welch DF: *Bartonella* species, including cat-scratch disease. In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Stout JE, Rihs JD, Yu VL: *Legionella*. In: Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Welch DF, Slater LN: *Bartonella* and *Afpia*. In: Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Yu VL: *Legionella pneumophila* (Legionnaires' disease). In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.

Micobacterias

Las micobacterias son bacilos aerobios no formadores de esporas. Aunque se tiñen con dificultad, una vez teñidos resisten la decoloración con ácido o alcohol y por tanto se les denomina bacilos "acidorresistentes". El *Mycobacterium tuberculosis* causa la tuberculosis y es un patógeno muy importante para los humanos. *Mycobacterium leprae* es la causa de la lepra. El *Mycobacterium avium-intracellulare* (complejo *M. avium* o MAC; del inglés *M. avium complex*) y otras micobacterias atípicas con frecuencia infectan a pacientes con SIDA, son patógenos oportunistas en otras personas inmunodeficientes, y en ocasiones producen enfermedad en pacientes con sistema inmunitario normal. Existen más de 50 especies de *Mycobacterium*, las cuales incluyen muchas que son saprófitas. Las micobacterias que infectan al ser humano se presentan en el cuadro 24-1.

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

En los tejidos, el bacilo tuberculoso es un bacilo recto y delgado que mide casi $0.4 \times 3 \mu\text{m}$ (figura 24-1). En medios artificiales se observan formas cocoides y filamentosas con morfología variable de una especie a otra. Las micobacterias no se pueden clasificar como grampositivas o gramnegativas. Una vez teñidas con colorantes básicos resisten la decoloración con alcohol, cualquiera que sea el tratamiento con yodo. Los verdaderos bacilos tuberculosos se caracterizan por ser "acidorresistentes"; es decir, alcohol étílico al 95% con 3% de ácido clorhídrico (alcohol-ácido) decoloran con rapidez todas las bacterias excepto las micobacterias. La resistencia al ácido depende de la integridad de la envoltura cética. Puede emplearse la técnica de Ziehl-Neelsen para coloración con objeto de identificar las bacterias acidorresistentes. El método se explica con detalle en el capítulo 47. En frotis de esputo o cortes de tejido, se pueden demostrar micobacterias por fluorescencia amarillanaranja después de la tinción con colorantes derivados del fluorocromo (p. ej., auramina, rodamina).

B. Cultivo

Los medios para el cultivo primario de las micobacterias deben incluir un medio no selectivo y un medio selectivo.

El medio selectivo contiene antibióticos para evitar el crecimiento excesivo de las bacterias y los hongos contaminantes. Existen tres formulaciones generales que pueden emplearse para ambos medios, no selectivos y selectivos.

1. **Medio de agar semisintético:** estos medios (p. ej., Middlebrook 7H10 y 7H11) contienen sales definidas, vitaminas, cofactores, ácido oleico, albúmina, catalasa, glicerol, glucosa y verde de malaquita; el medio 7H11 contiene también caseína hidrolizada. La albúmina neutraliza los efectos tóxicos e inhibidores de los ácidos grasos en la muestra o en el medio. Los inóculos grandes producen crecimiento sobre estos medios en varias semanas. Puesto que se requieren inóculos grandes, estos medios a veces son menos sensibles que otros para el aislamiento primario de las micobacterias.

Los medios agar semisintéticos se emplean para observar la morfología de las colonias, para prueba de susceptibilidad y con antibióticos añadidos como medios selectivos.

2. **Medio de huevo inspissado:** estos medios (p. ej., Löwenstein-Jensen) contienen sales definidas, glicerol y sustancias orgánicas complejas (p. ej., huevo fresco o yema de huevo, harina de papa y otros ingredientes en combinaciones diversas). Se incluye verde de malaquita para inhibir otras bacterias. Los inóculos pequeños procedentes de las muestras de los pacientes pueden crecer sobre estos medios en 3 a 6 semanas.

Estos medios con antibióticos agregados se emplean como medios selectivos.

3. **Medios en caldo:** los medios en caldo (p. ej., Middlebrook 7H9 y 7H12) apoyan la proliferación de los inóculos pequeños. Ordinariamente, las micobacterias crecen en grumos o masas debido al carácter hidrófobo de la superficie celular. Si se añade detergente Tween (ésteres hidrosolubles de ácidos grasos) la superficie se humedece y por tanto se permite el crecimiento disperso en el medio líquido. El crecimiento con frecuencia es más rápido sobre medios complejos.

C. Características del crecimiento

Las micobacterias son aerobios obligados y derivan su energía de la oxidación de muchos compuestos simples de carbono. El incremento de la tensión del CO_2 aumenta el crecimiento. Las actividades bioquímicas no son caracte-

Cuadro 24-1. Micobacterias que infectan humanos

Especies	Reservorio	Manifestaciones clínicas comunes; comentarlos
ESPECIES CONSIDERADAS SIEMPRE PATÓGENAS		
<i>M. tuberculosis</i>	Humanos	Tuberculosis pulmonar y diseminada; millones de casos al año en el mundo
<i>M. leprae</i>	Humanos	Lepra
<i>M. bovis</i>	Humanos, ganado bovino	Enfermedad similar a tuberculosis; rara en EUA; el <i>M. bovis</i> está estrechamente relacionado con el <i>M. tuberculosis</i>
ESPECIES POTENCIALMENTE PATÓGENAS EN HUMANOS		
Causas relativamente comunes de enfermedad		
Complejo <i>M. avium</i>	Suelo, agua, aves, pájaros, cerdos, ganado bovino, ambiente	Diseminada, pulmonar; muy común en pacientes con SIDA; se presenta también en otros pacientes inmunodebiles; poco común en pacientes con sistema inmunitario normal
<i>M. kansasii</i>	Agua, ganado bovino	Pulmonar, otros sitios
Causas poco comunes o muy raras		
<i>M. africanum</i>	Humanos, monos	Cultivos pulmonares; asemeja <i>M. tuberculosis</i> ; rara
<i>M. genavense</i>	¿Humanos?, ¿pájaros mascota?	Sangre en pacientes con SIDA; crece en medio líquido (BACTEC) y en medio sólido complementado con micobactina J; crece en 2 a 8 semanas
<i>M. haemophilum</i>	Desconocido	Nódulos subcutáneos y úlceras principalmente en pacientes con SIDA; requiere hemoglobina o hemina; crece entre 28 a 32 °C; raro
<i>M. malmoense</i>	Desconocido, ambiente	Pulmonar, similar a tuberculosis (adultos); ganglios linfáticos (niños); la mayor parte de los casos reportados proviene de Suecia, pero el microorganismo puede estar mucho más propagado; <i>M. malmoense</i> está estrechamente vinculado con <i>M. avium-intracellulare</i> ; requiere 8 a 12 semanas para crecer
<i>M. marinum</i>	Peces, agua	Nódulos subcutáneos y abscesos, úlceras cutáneas
<i>M. scrofulaceum</i>	Suelo, agua, alimentos húmedos	Linadenitis cervical; habitualmente curada por incisión, drenaje y extirpación de los ganglios linfáticos afectados
<i>M. simiae</i>	Monos, agua	Pulmonar, diseminada en pacientes con SIDA; raro
<i>M. szulgai</i>	Desconocido	Pulmonar, similar a tuberculosis; rara
<i>M. ulcerans</i>	Humanos, ambiente	Nódulos subcutáneos y úlceras; puede ser grave; <i>M. ulcerans</i> está estrechamente relacionado a <i>M. marinum</i> ; requiere 6 a 12 semanas para crecer; crecimiento óptimo a 33 °C sugiere procedencia ambiental; raro
<i>M. xenopi</i>	Agua, pájaros	Pulmonar, similar a tuberculosis con enfermedad pulmonar preexistente, raro
De crecimiento rápido		
<i>M. fortuitum</i> y <i>M. chelonae</i>	Suelo, agua, animales acuáticos	Lesiones cutáneas es lo más común; abscesos subcutáneos, infección diseminada; crece en ≤ 7 días; <i>M. fortuitum</i> es más susceptible a los antibióticos
ESPECIES SAPROFITAS QUE MUY RARA VEZ CAUSAN ENFERMEDAD EN HUMANOS		
<i>M. goodii</i>	Agua	Estas especies saprofitas de <i>Mycobacterium</i> son causa rara de enfermedad en humanos. Los cultivos positivos para estas micobacterias generalmente significan contaminación ambiental de las muestras y no enfermedad. Muchas de las micobacterias saprofitas crecen mejor a temperatura ≤ 33 °C. Existen muchas otras especies saprofitas de <i>Mycobacterium</i> no presentadas aquí, las cuales pocas veces aparecen en cultivos de muestras de pacientes.
<i>M. flavescens</i>	Suelo, agua	
<i>M. farax</i>	Suelo, agua	
<i>M. goodii</i>	Lavado gástrico	

Figura
muestr
Neel
contr

rístic
para
ción
sapro
bien
acido

D. R.
y qu
Las m

tes qu
la nat
mient
(a) o l
para c
inhibi
dos y
tuber
elimin
trar" l
son re
prolon

E. Va
Puede
pigme
cimen
crecim

F. Pa
Existe
micob
huésp
bles a
aves y

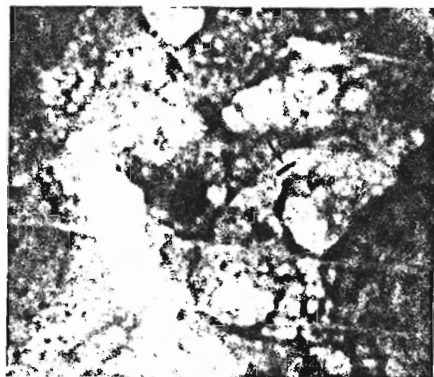


Figura 24-1. *Mycobacterium tuberculosis* (flecha) en una muestra de esputo procesada y teñida con tinción de Ziehl-Neelsen. En las tinciones el *M. Tuberculosis* tienen color rojo contra un fondo débilmente azul.

rísticas y la tasa de crecimiento es mucho más lenta que para la mayor parte de las bacterias. El tiempo de duplicación del bacilo tuberculoso es de casi 18 h. Las variedades saprofitas tienden a crecer con mayor rapidez, proliferan bien entre 22 a 33 °C, producen más pigmento y son menos acidorresistentes que las variedades patógenas.

D. Reacción a los agentes físicos y químicos

Las micobacterias tienden a ser más resistentes a los agentes químicos en comparación con otras bacterias, debido a la naturaleza hidrófoba de la superficie celular y a su crecimiento en grumos. Los colorantes (p. ej., verde de malaquita) o los antibacterianos (p. ej., penicilina), bacteriostáticos para otras bacterias, pueden incorporarse en el medio sin inhibir el crecimiento de los bacilos tuberculosos. Los ácidos y álcalis permiten la supervivencia de algunos bacilos tuberculosos expuestos y se pueden utilizar para ayudar a eliminar microorganismos contaminantes y para "concentrar" las muestras clínicas. Los bacilos de la tuberculosis son resistentes a la desecación y sobreviven por periodos prolongados en el esputo seco.

E. Variación

Pueden ocurrir variaciones en el aspecto de las colonias, la pigmentación, la virulencia, la temperatura óptima de crecimiento y en muchas otras características celulares o del crecimiento.

F. Patogenicidad de las micobacterias

Existen diferencias notables en la capacidad de las diversas micobacterias para producir lesiones en varias especies de huéspedes. Los humanos y los cobayos son muy susceptibles a la infección por *M. tuberculosis*, en tanto que las aves y el ganado bovino son resistentes. *M. tuberculosis* y

M. bovis son igualmente patógenos para humanos. La vía de infección (respiratoria en comparación con intestinal) determina el patrón de las lesiones. En los países desarrollados el *M. bovis* se ha convertido en una especie poco común. Algunas micobacterias "atípicas" (p. ej., *Mycobacterium kansasii*) producen una enfermedad humana indistinguible de la tuberculosis; otras (p. ej., *Mycobacterium fortuitum*) sólo producen lesiones superficiales o actúan como oportunistas.

Constituyentes del bacilo tuberculoso

Los constituyentes mencionados líneas adelante se encuentran principalmente en la pared de la célula. La pared de las células micobacterianas puede inducir hipersensibilidad retardada y cierta resistencia a la infección, también puede sustituir a las células micobacterianas íntegras en el adyuvante de Freund. El contenido de las células micobacterianas induce reacciones de hipersensibilidad retardada sólo en los animales previamente sensibilizados.

A. Lípidos

Las micobacterias son abundantes en lípidos. Éstos incluyen ácidos micólicos (ácidos grasos de cadena larga C78-C90), ceras y fosfátidos. En la célula los lípidos se unen principalmente con proteínas y polisacáridos. El dipéptido muramyl (procedente de peptidoglucanos) forma complejos con el ácido micólico y puede generar la formación de granulomas; los fosfolípidos inducen necrosis caseosa. En cierto grado los lípidos son los causantes de la resistencia al ácido. Su eliminación con ácido caliente destruye la acidorresistencia, la cual depende tanto de la integridad de la pared celular como de la presencia de ciertos lípidos. La acidorresistencia también se pierde después de la sonicación de las células micobacterianas. El análisis de los lípidos mediante cromatografía de gas revela patrones que ayudan a clasificar las diferentes especies.

Las cepas virulentas de bacilos tuberculosos forman "cordones serpentina" microscópicos en los cuales los bacilos acidorresistentes se disponen en cadenas paralelas. La formación de cordones se correlaciona con virulencia. Un "factor formador de cordones" (trealosa-6,6'-dimicolato) puede extraerse de los bacilos virulentos con éter de petróleo. Inhibe la migración de los leucocitos, es causa de granulomas crónicos, y puede servir como "adyuvante" inmunológico.

B. Proteínas

Cada tipo de micobacteria contiene varias proteínas que inducen la reacción de la tuberculina. La proteína unida a una fracción cética puede, después de la inyección, inducir sensibilidad a la tuberculina. También puede inducir la formación de varios anticuerpos.

C. Polisacáridos

Las micobacterias contienen varios polisacáridos. Su función en la patogenia de la enfermedad es incierta. Pueden inducir hipersensibilidad de tipo inmediato y a veces sirven como antígeno en las reacciones con el suero de personas infectadas.

Patogenia

Las micobacterias en gotas de secreción respiratoria de 1 a 5 μm de diámetro se inhalan y llegan a los alvéolos. La enfermedad se produce por el establecimiento y proliferación de microorganismos virulentos y por interacciones con el huésped. Los bacilos avirulentos inyectados (p. ej., BCG) sólo sobreviven meses o años en el huésped normal. La resistencia y la hipersensibilidad del huésped influyen mucho en el desarrollo de la enfermedad.

Patología

La producción y el desarrollo de las lesiones, así como su cicatrización o evolución, están determinados principalmente por: 1) el número de micobacterias en el inoculo y su multiplicación subsecuente, y 2) la resistencia y la hipersensibilidad del huésped.

A. Dos lesiones principales

1. **Tipo exudativo:** esta lesión es una reacción inflamatoria aguda con líquido de edema, leucocitos polimorfonucleares y, después, monocitos que rodean a los bacilos tuberculosos. Este tipo de lesión se observa particularmente en el tejido pulmonar, donde se asemeja a la neumonía bacteriana. Puede cicatrizar por resolución, de modo que se absorba todo el exudado, también puede conducir a necrosis masiva del tejido, o a veces desarrollar el segundo tipo de lesión (productiva). Durante la fase exudativa la prueba de tuberculina se vuelve positiva.
2. **Tipo productivo:** cuando la lesión está totalmente desarrollada consiste en un granuloma crónico que consta de tres zonas: 1) una región central de células gigantes y multinucleadas que contiene bacilos tuberculosos; 2) una zona media de células epiteloides pálidas, con frecuencia dispuestas radialmente, y 3) una zona periférica de fibroblastos, linfocitos y monocitos. Posteriormente se desarrolla tejido fibroso en la periferia, y la región central sufre necrosis caseosa. A esta lesión se le denomina tubérculo. Un tubérculo caseoso puede romperse en el interior de los bronquios, vaciar allí su contenido y formar la cavidad. Subsecuentemente puede cicatrizar por fibrosis o calcificación.

B. Diseminación de los microorganismos en el huésped

Los bacilos tuberculosos se propagan en el huésped por extensión directa a través de los conductos linfáticos y la corriente sanguínea, y por medio de los bronquios y el aparato gastrointestinal.

En la primoinfección los bacilos tuberculosos siempre se diseminan desde el sitio inicial a los ganglios linfáticos regionales a través de la vía linfática. Los bacilos pueden propagarse más allá y alcanzar el torrente sanguíneo, de esta forma distribuye los bacilos a todos los órganos (distribución miliar). El torrente sanguíneo también puede ser invadido a causa de la erosión de una vena por un tubérculo caseoso o ganglio linfático. Si la lesión caseosa descarga su contenido dentro de un bronquio, se aspira y distribuye a

otras partes de los pulmones, o puede deglutirse y pasar al estómago y a los intestinos.

C. Sitio de crecimiento intracelular

Una vez que las micobacterias se establecen en los tejidos residen principalmente dentro de las células en los monocitos, las células reticuloendoteliales y células gigantes. La localización intracelular es una de las características que dificulta la quimioterapia y favorece la resistencia del microbio. Dentro de las células de animales inmunes se inhibe considerablemente la multiplicación de los bacilos tuberculosos.

Infección primaria y tipos de reactivación tuberculosa

Cuando un huésped tiene su primer contacto con el bacilo tuberculoso generalmente se observan las siguientes características: 1) Se desarrolla una lesión exudativa aguda y se propaga con rapidez a los vasos linfáticos y a los ganglios linfáticos regionales. La lesión exudativa en los tejidos con frecuencia cicatriza con rapidez. 2) Los ganglios linfáticos sufren caseificación masiva, la cual generalmente se calcifica. 3) La prueba de la tuberculina es positiva.

Este tipo de infección primaria se observó en el pasado por lo general en la infancia, pero ahora es frecuente en adultos que han permanecido libres de la infección y por tanto son tuberculinonegativos al principio de su vida. En las infecciones primarias la afección puede situarse en cualquier parte del pulmón, pero es más frecuente en la base.

La infección del tipo reactivación generalmente es causada por bacilos tuberculosos que sobreviven en la lesión primaria. La reactivación de la tuberculosis se caracteriza por lesiones crónicas en el tejido, formación de tubérculos, caseificación y fibrosis. Los ganglios linfáticos regionales sólo están ligeramente afectados y no se caseifican. La reactivación se inicia casi siempre en el vértice del pulmón, donde la tensión de oxígeno (PO_2) es mayor.

Estas diferencias entre la infección primaria y la reactivación o reactivación se atribuyen a: 1) resistencia y 2) hipersensibilidad inducida por la primera infección del huésped con los bacilos tuberculosos. No está claro hasta qué grado participa cada uno de estos componentes en la respuesta modificada en la reactivación de la tuberculosis.

Inmunidad e hipersensibilidad

A menos que el huésped muera durante la primoinfección con bacilos tuberculosos, se adquiere una cierta resistencia: hay una mayor capacidad para localizar los bacilos tuberculosos, retardar su multiplicación, limitar su propagación y reducir la diseminación linfática. Esto puede atribuirse al desarrollo de inmunidad celular durante la infección inicial, con capacidad evidente de los fagocitos mononucleares para limitar la multiplicación de los microorganismos ingeridos e incluso para destruirlos.

Se forman anticuerpos contra varios constituyentes celulares del bacilo tuberculoso. La presencia de anticuerpos se puede determinar mediante muchas pruebas serológicas

diferentes. Ninguna de estas reacciones serológicas representa interrelación inequívoca alguna con el estado inmunitario del huésped.

En el curso de la infección primaria el huésped también adquiere hipersensibilidad al bacilo tuberculoso. Esto es evidente por el desarrollo de una reacción positiva a la tuberculina (véase después). La sensibilidad a la tuberculina puede inducirse por el bacilo tuberculoso íntegro o mediante tuberculoproteínas en combinación con la cera D soluble en cloroformo del bacilo tuberculoso, pero nunca por la tuberculoproteína sola. La hipersensibilidad y la resistencia parecen ser dos aspectos distintos de reacciones interrelacionadas mediadas por células.

Prueba de tuberculina

A. Material

La tuberculina antigua es un filtrado concentrado del caldo en el cual han crecido bacilos tuberculosos durante seis semanas. Además de las tuberculoproteínas reactivas, este material contiene una variedad de otros constituyentes de los bacilos tuberculosos y del medio de crecimiento. Un derivado purificado de la proteína (PPD por sus siglas en inglés, *purified protein derivative*) se obtiene por fraccionamiento químico de la tuberculina antigua. El PPD se estandariza en términos de su reactividad biológica como "unidades de tuberculina" (UT). Por acuerdo internacional, la UT se define como la actividad contenida en un peso especificado de PPD de Seibert lote número 49608 en un amortiguador determinado. Éste es el PPD-S, el estándar de tuberculina contra el cual se puede establecer la potencia de todos los productos mediante análisis biológico, o sea, por la magnitud de la reacción en los humanos. La tuberculina de primera potencia tiene 1 UT, la de potencia intermedia tiene 5 UT y la de segunda potencia tiene 250 UT. La bioequivalencia de los productos de PPD no se basa en el peso del material sino en la actividad comparativa.

B. Dosis de tuberculina

Una gran cantidad de tuberculina inyectada a un huésped hipersensible puede dar lugar a reacciones locales graves y a una exacerbación de la inflamación y necrosis en los principales sitios de infección (reacciones focales). Por esta razón, la prueba de la tuberculina en las encuestas emplea 5 UT; en las personas con posible hipersensibilidad extrema, la prueba cutánea se inicia con 1 UT. El material más concentrado (250 UT) sólo se administra si es negativa la reacción con 5 UT. El volumen es generalmente de 0.1 mL inyectado por vía intradérmica. La preparación del PPD debe estabilizarse con polisorbato 80 para evitar la adsorción al vidrio.

C. Reacciones a la tuberculina

En una persona que no ha tenido contacto con las micobacterias, no hay reacción al PPD-S. Las personas quienes ya tuvieron infección primaria con el bacilo tuberculoso desarrollan induración, edema y eritema en 24 a 48 h; y con reacciones muy intensas, incluso necrosis central. La prueba cutánea debe leerse en 48 o 72 h. Se considera positiva si la inyección de 5 UT va seguida por induración con diámetro de 10 mm o más. Las pruebas positivas tienden a persistir durante varios días. Las reacciones débiles pueden desaparecer más rápidamente.

La prueba de la tuberculina se hace positiva en 4 a 6 semanas después de la infección (o inyección de bacilos avirulentos). Puede ser negativa en presencia de infección tuberculosa cuando se desarrolla una "anergia" debida a tuberculosis masiva, sarampión, enfermedad de Hodgkin, sarcoidosis, SIDA o inmunodeficiencia. Una prueba tuberculínica positiva en ocasiones puede revertirse a negativa después del tratamiento con isoniácida de una persona recién convertida. Luego de la vacunación con BCG una prueba positiva puede durar sólo de 3 a 7 años. Sólo la eliminación de los bacilos tuberculosos viables resulta en la reversión a la negatividad de la prueba de tuberculina. Sin embargo, las personas que fueron PPD positivas durante años y se encuentran sanas, a veces no dan prueba cutánea positiva. Cuando a estas personas se les somete a nuevas pruebas dos semanas más tarde, su prueba cutánea de PPD —un "refuerzo" por la inyección de antígeno reciente— da nuevamente una prueba positiva con el mismo grado de induración.

D. Interpretación de la prueba de tuberculina

Una prueba positiva a la tuberculina indica que la persona se ha infectado en el pasado y continúa como portador de micobacterias viables en algunos tejidos. Esto no implica la presencia de enfermedad activa o de inmunidad a la enfermedad. Las tuberculínicas positivas se encuentran en riesgo de desarrollar enfermedad por reactivación de la infección primaria, en tanto que las personas tuberculínicas negativas que nunca se han infectado no están sujetas a ese riesgo, aunque pueden infectarse por una fuente externa.

Datos clínicos

Como los bacilos tuberculosos pueden afectar cualquier órgano, sus manifestaciones clínicas son variadas. Pueden ser signos de enfermedad tuberculosa como fatiga, debilidad, pérdida de peso y fiebre. La afección pulmonar que da lugar a tos crónica y esputo sanguinolento en general se relaciona con lesiones muy avanzadas. La meningitis o la afección del aparato urinario pueden presentarse en ausencia de otros signos de tuberculosis. La diseminación por la circulación sanguínea produce tuberculosis miliar con lesiones en muchos órganos y una tasa de mortalidad elevada.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Una prueba de tuberculina positiva no demuestra la presencia de enfermedad activa causada por bacilo tuberculoso. El aislamiento de éste proporciona tal prueba.

A. Muestras

Las muestras consisten en esputo fresco, lavado gástrico, orina, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, líquido articular, material de biopsia, sangre u otro material sospechoso.

B. Descontaminación y concentración de las muestras

Las muestras de esputo y otros sitios no estériles deben li- cuarse con N-acetil-L-cisteína, descontaminarse con NaOH

(que mata a muchas otras bacterias y hongos), neutralizarse con amortiguador y concentrarse por centrifugación. Las muestras procesadas de esta manera se pueden usar para tinciones acidorresistentes y para cultivo. Las muestras de sitios estériles como el líquido cefalorraquídeo no necesitan someterse al proceso de descontaminación, sino que se pueden centrifugar, examinar y cultivar directamente.

C. Frotis

El esputo, los exudados u otro material se examina en busca de bacilos acidorresistentes mediante la tinción de Ziehl-Neelsen. La tinción del material proveniente de lavado gástrico y de la orina generalmente no se recomienda, puesto que las micobacterias saprofitas pueden estar presentes y producir una tinción positiva. La microscopía por fluorescencia con tinción auramina-rodamina es más sensible que la tinción acidorresistente. Si se encuentran microorganismos acidorresistentes en una muestra apropiada, esto es una evidencia presuntiva de infección micobacteriana.

D. Cultivo, identificación y pruebas de susceptibilidad

Las muestras procesadas recolectadas de sitios no estériles y las muestras centrifugadas de sitios estériles se pueden cultivar directamente sobre medios selectivos y no selectivos (véase antes). El caldo de cultivo selectivo es con frecuencia el método más sensible y proporciona resultados con mayor rapidez. Un medio agar selectivo (p. ej., Löwenstein-Jensen o Middlebrook 7H10/7H11 en biplica con antibiótico) se debe inocular paralelamente con los medios de caldo de cultivo. La incubación se efectúa de 35 a 37 °C en 5 a 10% de CO₂ durante ocho semanas. Si los cultivos resultan negativos en presencia de una tinción acidorresistente positiva, o se sospecha de micobacterias atípicas con crecimiento lento (véase más adelante), entonces se debe incubar un conjunto de medios inoculados a temperaturas menores (p. ej., 24 a 33 °C) e incubar ambos grupos durante 12 semanas.

La sangre para cultivo de complejo de micobacterias (generalmente *M. avium*) debe ser anticoagulada y procesada por uno de los tres métodos: 1) sistema de centrifugación y lisis disponible en el comercio; 2) inoculación en caldo específicamente diseñado para cultivos disponible en el comercio; 3) centrifugación de la sangre e inoculación en caldo de cultivo de la capa sobrenadante de leucocitos, con o sin lisis con desoxicolato de las células. También se pueden usar de manera paralela medios sólidos.

Es médicamente importante caracterizar y separar el *M. tuberculosis* de todas las otras especies de micobacterias. Las micobacterias aisladas deben identificarse hasta su especie. Los métodos convencionales para identificar micobacterias incluyen la observación de la tasa de crecimiento, la morfología de las colonias, la pigmentación y los perfiles bioquímicos. Los métodos convencionales con frecuencia requieren 6 a 8 semanas para identificación. La tasa de crecimiento separa a los que crecen con rapidez (crecimiento en ≤ 7 días) de otras micobacterias (cuadro 24-1). Los fotocromógenos producen pigmentos en la luz pero no en la oscuridad; los escotocromógenos desarrollan pigmentos cuando crecen en la oscuridad; los no cromógenos (no fotocromógenos) no son pigmentados o presentan co-

lonias de color amarillo-naranja ligero. Las especies individuales o los complejos se definen mediante características bioquímicas adicionales (p. ej., pruebas positivas de niacina como el *M. tuberculosis*, reducción del nitrato, producción de ureasa o catalasa, prueba de arilsulfatasa, y muchas otras). La clasificación tradicional basada en los métodos convencionales de identificación se muestra en el cuadro 24-2. Los métodos de análisis molecular se encuentran disponibles para cuatro especies (véase más adelante) y son mucho más rápidos que los métodos convencionales. En EUA las cuatro especies constituyen 95% o más de las micobacterias aisladas en la clínica, y los métodos convencionales sólo se usan para identificar un pequeño porcentaje de las bacterias aisladas en la clínica. Los métodos convencionales para la clasificación de las micobacterias adquieren rápidamente interés histórico, debido a que los métodos moleculares de diagnóstico son mucho más rápidos y más fáciles de realizar.

Las sondas moleculares proporcionan un método específico rápido y sensible para identificar las micobacterias. Las sondas se pueden utilizar sobre el crecimiento de micobacterias en medio sólido o en caldo de cultivo. Las sondas DNA específicas para secuencias del rRNA de los microorganismos sometidos a prueba se emplean en el procedimiento de hibridación. Existen aproximadamente 10 mil copias de rRNA por célula de micobacteria, lo cual proporciona un sistema natural de amplificación al tiempo que

Cuadro 24-2. Clasificación de Runyon para micobacterias

Clasificación	Organismo
Complejo de la TB	<i>M. tuberculosis</i>
	<i>M. africanum</i>
	<i>M. bovis</i>
Fotocromógenos	<i>M. asiaticum</i>
	<i>M. kansasii</i>
	<i>M. marinum</i>
	<i>M. simiae</i>
Escotocromógenos	<i>M. flavescens</i>
	<i>M. goodii</i>
	<i>M. scrofulaceum</i>
	<i>M. szulgai</i>
No cromógenos	<i>M. avium</i> (complejo)
	<i>M. celatum</i>
	<i>M. haemophilum</i>
	<i>M. gastri</i>
	<i>M. genavense</i>
	<i>M. mageritense</i>
	<i>M. nonchromogenicum</i>
	<i>M. shimoidei</i>
	<i>M. terrae</i>
	<i>M. triviale</i>
	<i>M. ulcerans</i>
	<i>M. xenopi</i>
De crecimiento rápido	<i>M. abscessus</i>
	<i>M. fortuitum</i> (grupo)
	<i>M. chelonae</i> (grupo)
	<i>M. phlei</i>
	<i>M. smegmatis</i>
	<i>M. vaccae</i>

incrementa su detección. Los híbridos de doble cadena se separan de las sondas no hibridadas de cadena sencilla. Las sondas de DNA están acopladas a sustancias químicas que son activadas en los híbridos y detectadas mediante quimioluminiscencia. Se encuentran en uso sondas para el complejo *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis* y *M. africanum*), para el complejo *M. avium* (*M. avium*, *M. intracellulare* y micobacterias muy relacionadas), para *M. kansasii* y para *M. goodii*. El uso de estas sondas ha reducido el tiempo para identificar las micobacterias clínicamente importantes desde varias semanas hasta un día.

La cromatografía de fase líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés, *high-performance liquid chromatography*) se aplica para la especiación de las micobacterias. El método se basa en el desarrollo de perfiles de ácidos micólicos, los cuales varían de una especie a otra. La HPLC para asignar la especie a las micobacterias se encuentra disponible en los laboratorios de referencia.

Las pruebas de susceptibilidad de las micobacterias son un coadyuvante importante en la selección de los fármacos para un tratamiento eficaz. Puede emplearse una técnica estandarizada en caldo de cultivo radiométrica para probar la susceptibilidad a los fármacos de primera línea. Las técnicas convencionales en agar más laboriosas y complejas por lo general se realizan en los laboratorios de referencia; los fármacos de primera y segunda líneas pueden probarse con este método.

E. Detección del DNA, serología y detección de antígenos

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) aún es la más promisoría para la detección rápida y directa del *M. tuberculosis* en las muestras clínicas. La sensibilidad total es de 55 a 90% con una especificidad de casi 99%. La prueba tiene una mayor sensibilidad cuando se aplican muestras que fueron positivas en los frotis para bacilos acidorresistentes; la prueba de PCR se aprobó para este uso en muestras de esputo que son positivas a la tinción y acidorresistentes.

El inmunoenálisis enzimático se emplea para detectar los antígenos micobacterianos, pero la sensibilidad y la especificidad son menores que con otros métodos. Problemas similares existen en la aplicación de la EIA para detectar anticuerpos a los antígenos de *M. tuberculosis*. Ninguno de estos métodos es adecuado para emplearse en el diagnóstico sistemático.

Tratamiento

El tratamiento primario para la infección por micobacterias es la quimioterapia específica. Los fármacos para el tratamiento de la infección por micobacterias se estudian en el capítulo 10. En el capítulo 48 se presentan dos casos de tuberculosis.

Entre 1×10^6 y 1×10^7 bacilos tuberculosos son mutantes resistentes espontáneos a los antituberculosos de primera línea. Cuando se emplea sólo un fármaco el bacilo tuberculoso resistente emerge con rapidez y se multiplica. Por tanto, el régimen de tratamiento emplea fármacos en combinación para producir tasas de curación > 95%.

Los dos fármacos principales empleados para el tratamiento de la tuberculosis son isoniácida y rifampicina.

Los otros fármacos de primera línea son pirazinamida, etambutol y estreptomina. Los fármacos de segunda línea son más tóxicos o menos eficaces (o ambas cosas), y sólo deben emplearse en la terapéutica en circunstancias extremas (p. ej., fracaso del tratamiento, resistencia a múltiples fármacos). Los fármacos de segunda línea incluyen kanamicina, capreomicina, etionamida, cicloserina, ofloxacina y ciprofloxacina.

El régimen estándar de nueve meses se basa en isoniácida y rifampicina administradas diariamente; es posible administrar de manera concomitante pirazinamida, etambutol o estreptomina en tanto no se conozcan los resultados de las pruebas de susceptibilidad. La isoniácida y la rifampicina se pueden administrar todos los días durante 1 a 2 meses y dos veces por semana en el resto de los nueve meses, pero este régimen no se debe emplear cuando existe cualquier probabilidad de resistencia a los fármacos. También hay varios regímenes de seis meses para el tratamiento inicial de tuberculosis en los cuales generalmente se emplean 3 o 4 fármacos durante dos meses, seguidos por isoniácida y rifampicina dos veces por semana hasta completar los seis meses. En los pacientes que no cumplen con el tratamiento también es importante una terapéutica bajo observación directa.

La resistencia a los fármacos en *M. tuberculosis* es un problema mundial. Ya se han definido los mecanismos que explican el fenómeno de la resistencia para muchas, aunque no para todas las cepas resistentes. La resistencia a la isoniácida se relaciona con delecciones o mutaciones en el gen catalasa-peroxidasa (*katG*); estos aislados se convierten en catalasa-negativos o disminuyen su actividad de catalasa. La resistencia a la isoniácida también se ha relacionado con alteraciones en el gen *inhA*, el cual codifica una enzima que funciona en la síntesis de ácido micólico. La resistencia a la estreptomina está asociada con mutaciones en los genes *rpsL* y *rrs*, los cuales codifican la proteína ribosómica S12 y el rRNA 16S, respectivamente. La resistencia a la rifampicina se relaciona con alteraciones en la subunidad β de la RNA polimerasa, el gen *rpoB*. Las mutaciones en el gen de la DNA girasa, el *gyrA*, se han involucrado con la resistencia a la fluoroquinolona. Al seleccionar el tratamiento siempre debe tenerse en cuenta la posibilidad de que haya resistencia a los fármacos en el *M. tuberculosis* aislado de un paciente.

Un régimen de cuatro fármacos con isoniácida, rifampicina, pirazinamida y etambutol se recomienda para las personas en EUA, las cuales presentan un riesgo de ligero a moderado de ser infectados con bacilos tuberculosos resistentes a los fármacos. Los factores de riesgo incluyen recién emigrados de Latinoamérica o Asia, personas con infecciones por VIH o que están en riesgo de infección por VIH y viven en un área con escasa prevalencia de bacilos tuberculosos resistentes a múltiples fármacos, y quienes previamente se han tratado con un régimen que no incluyó rifampicina.

El *M. tuberculosis* resistente a múltiples fármacos (resistente a isoniácida y rifampicina) es un problema cada vez mayor en el tratamiento y el control de la tuberculosis. Estas cepas predominan en ciertas áreas geográficas (p. ej., la ciudad de Nueva York) y en ciertas poblaciones (hospitales y prisiones). Se han reportado muchos brotes de tuberculosis con cepas resistentes a múltiples fármacos. Son

Complejo *Mycobacterium avium*

El complejo *Mycobacterium avium*, a menudo es llamado complejo MAC o MAI (*M. avium-intracellulare*). Su crecimiento óptimo tiene lugar a 41 °C y produce colonias lisas, blandas y no pigmentadas. Son ubicuos en el ambiente y se les ha cultivado a partir de agua, suelo, alimentos y animales, incluyendo aves.

El MAI causa enfermedad con poca frecuencia en humanos inmunocompetentes. Sin embargo, en EUA la infección diseminada por MAI es una de las infecciones oportunistas de origen bacteriano más comunes en los pacientes con SIDA. El riesgo de desarrollar infección diseminada por MAI en personas con infección por VIH aumenta considerablemente cuando la cifra de linfocitos CD4-positivos declina a <100/μL (véase caso 17 en el capítulo 48). El sexo, la raza, el grupo étnico y los factores de riesgo individual para infección por VIH no influyen en el desarrollo de la infección diseminada por MAI, pero infección previa por *Pneumocystis carinii*, anemia grave e interrupción de la terapéutica antirretroviral pueden aumentar el riesgo.

Durante los primeros 15 años de la epidemia del SIDA, aproximadamente 25% y quizá hasta 50%, de los pacientes infectados con VIH desarrollaron bacteriemia e infección diseminada secundarias al complejo o *Mycobacterium avium* a lo largo del curso del SIDA. Posteriormente, el uso profiláctico de azitromicina o claritromicina contribuyó al descenso significativo de la incidencia de infección MAI diseminada en pacientes con SIDA.

La exposición ambiental puede conducir a la colonización por MAI en los aparatos respiratorio o gastrointestinal. Hay bacteriemia transitoria seguida por invasión de los tejidos. La bacteriemia persistente y la infiltración extensa de los tejidos resulta en la disfunción de órganos. Cualquiera de éstos puede afectarse. En el pulmón son comunes los nódulos, el infiltrado difuso, las cavernas y las lesiones endobronquiales. Otras manifestaciones incluyen pericarditis, abscesos de tejido blando, lesiones cutáneas, afección de los ganglios linfáticos, infección de hueso y lesiones en sistema nervioso central. Los pacientes presentan con frecuencia síntomas inespecíficos como fiebre, sudor nocturno, dolor abdominal, diarrea y pérdida de peso. El diagnóstico se establece mediante cultivo del MAI a partir de sangre o de tejido.

Generalmente, el MAI es resistente a los antituberculosos de primera línea. El tratamiento con los nuevos macrólidos, claritromicina o azitromicina, además de etambutol, es la terapéutica inicial preferida. Otros fármacos que pueden ser útiles son la rifabutina (ansamcina), la clofacimina, las fluoroquinolonas y la amikacina. Con frecuencia se emplean múltiples fármacos en combinación. La terapéutica debe continuar durante toda la vida. Con el tratamiento disminuye la cantidad del MAI en la sangre y los síntomas clínicos mejoran. La profilaxia con rifabutina reduce la incidencia de bacteriemia en casi 50% y disminuye los síntomas clínicos cuando hay enfermedad diseminada.

Mycobacterium kansasii

M. kansasii es un fotocromógeno que requiere medio complejo para crecer a 37 °C. Puede producir una enfermedad

pulmonar y sistémica indistinguible de la tuberculosis, sobre todo en pacientes con respuesta inmunitaria deficiente. Las bacterias susceptibles a la rifampicina con frecuencia se tratan mediante una combinación de rifampicina, etambutol e isoniazida, con buena respuesta clínica. La fuente de la infección es incierta y la transmisibilidad es escasa o nula.

Mycobacterium scrofulaceum

Éste es un escotocromógeno que se encuentra ocasionalmente en el agua y como saprofito en adultos con enfermedad pulmonar crónica. Causa linfadenitis cervical crónica en niños y, raras veces, otras enfermedades granulomatosas. La escisión quirúrgica de los ganglios linfáticos cervicales afectados puede ser curativa; es común la resistencia a los antituberculosos. (*Mycobacterium shulgai* y *Mycobacterium xenopi* son muy parecidos.)

Mycobacterium marinum y *Mycobacterium ulcerans*

Estos microorganismos se encuentran en el agua, crecen mejor a temperatura baja (31 °C), pueden infectar peces y a veces producen lesiones cutáneas superficiales (úlceras, "granuloma de piscina") en humanos. En ocasiones son eficaces la escisión quirúrgica, las tetraciclinas, la rifampicina y el etambutol.

Complejo *Mycobacterium fortuitum-chelonae*

Éstos son saprofitos que se encuentran en el suelo y el agua, crecen con rapidez (3 a 6 días) en el cultivo y no forman pigmentos. En raras ocasiones pueden producir enfermedad superficial y sistémica en los humanos. Con frecuencia los microorganismos son resistentes a los fármacos antimicrobianos, pero pueden responder a amikacina, doxiciclina, cefoxitina, eritromicina o rifampicina.

Otras especies *Mycobacterium*

El alto riesgo para la infección por micobacterias en los pacientes con SIDA ha incrementado la percepción de las infecciones micobacterianas en general. Las especies previamente consideradas como curiosidades y sumamente raras ahora se identifican con mayor frecuencia (cuadro 24-1). El *Mycobacterium mageritense* se ha informado principalmente en el norte de Europa. Produce una enfermedad similar a la tuberculosis pulmonar en los adultos y linfadenitis en los niños. *Mycobacterium haemophilum* y *Mycobacterium genavense* producen enfermedad en los pacientes con SIDA. La importancia de estas dos especies aún no se entiende por completo.

Micobacterias saprofitas no relacionadas con enfermedad humana

Mycobacterium phlei se encuentra con frecuencia sobre plantas, en el suelo o en el agua. Lo mismo sucede con *Mycobacterium gordonae*. El *Mycobacterium smegmatis* se encuentra regularmente en la secreción sebácea humana y puede confundirse con microorganismos patógenos acidorresistentes. *Mycobacterium paratuberculosis* produce enteritis crónica en el ganado bovino.

MYCOBACTERIUM LEPRAE

Este microorganismo fue descrito por Hansen en 1873 (nueve años antes del descubrimiento del bacilo tuberculoso por Koch), pero no se ha cultivado en medios bacteriológicos sin células. Produce la lepra. Existen más de 10 millones de casos de lepra, principalmente en Asia.

En la lepra lepromatosa casi siempre se encuentran bacilos típicos acidorresistentes —únicos, en heces paralelos o en masas globulares— en el raspado de la piel o de las mucosas (en particular del tabique nasal). Los bacilos con frecuencia se encuentran dentro de las células endoteliales de los vasos sanguíneos o en las células mononucleares. Cuando bacilos procedentes de la lepra humana (tejido obtenido por raspado de la mucosa nasal y luego triturado) se inoculan en el cojín plantar del ratón, se desarrollan lesiones granulomatosas locales con multiplicación limitada de los bacilos. Los armadillos inoculados desarrollan lepra lepromatosa extensa, y estos animales naturalmente infectados con lepra se encuentran en Texas y México. El *M. leprae* del armadillo o de tejidos humanos contiene una *o*-difenoil oxidasa peculiar, tal vez una enzima característica del bacilo leproso.

Datos clínicos

El inicio de la lepra es insidioso. Las lesiones afectan los tejidos más fríos del cuerpo: piel, nervios superficiales, nariz, faringe, laringe, ojos y testículos. Las lesiones cutáneas se observan como lesiones maculares pálidas anestésicas, de 1 a 10 cm de diámetro; con eritema difuso o discreto, nódulos infiltrados de 1 a 5 cm de diámetro; o infiltración cutánea difusa. Los trastornos neurológicos se manifiestan por infiltración y engrosamiento de los nervios, con los resultados de anestesia, neuritis, parestesia, úlceras tróficas y resorción ósea y acortamiento de los dedos. En los casos no tratados puede ser muy notable el desfiguramiento causado por la infiltración cutánea y la afectación de los nervios.

La enfermedad se divide en dos tipos principales: lepromatosa y tuberculoides, con varias etapas intermedias. En el tipo lepromatosa la evolución es progresiva y maligna con lesiones nodulares cutáneas; afección simétrica lenta de los nervios; abundantes bacilos acidorresistentes en las lesiones cutáneas; bacteriemia continua; y prueba cutánea negativa a la lepromina (extracto de tejido lepromatoso). En la lepra lepromatosa la inmunidad mediada por células es notablemente deficiente y la piel está infiltrada

por células T supresoras. En el tipo tuberculoides la evolución es benigna y no progresiva, con lesiones cutáneas maculares, afección nerviosa asimétrica grave de inicio súbito con pocos bacilos presentes en las lesiones, y prueba cutánea positiva a la lepromina. En la lepra tuberculoides la inmunidad mediada por células está intacta, y la piel, infiltrada con células T colaboradoras.

También se pueden presentar manifestaciones sistémicas de anemia y linfadenopatía. Es común la afección ocular. Puede desarrollarse amiloidosis.

Diagnóstico

El raspado de la piel o de la mucosa nasal con una hoja de bisturí o una biopsia de la piel del lóbulo de la oreja se extienden sobre un portaobjetos y se tiñen con la técnica de Ziehl-Neelsen. La biopsia de la piel o de un nervio engrosado suministra un cuadro histológico típico. Ninguna prueba serológica tiene valor. Las pruebas serológicas no treponematosas para sífilis frecuentemente producen resultados falsos positivos en la lepra.

Tratamiento

Sulfonas como la dapsona (véase capítulo 10) son el tratamiento de primera línea para la lepra tanto tuberculoides como lepromatosa. Por lo general, se incluye rifampicina o clofazimina en los regímenes terapéuticos iniciales. Otros fármacos activos contra *M. leprae* son minociclina, claritromicina y algunas fluoroquinolonas. Los esquemas de tratamiento recomendados por la Organización Mundial de la Salud son muy prácticos, pero se requieren varios años de terapéutica para tratar y controlar adecuadamente la lepra.

Epidemiología

La transmisión de la lepra probablemente tiene lugar cuando los niños de corta edad se exponen por periodos prolongados a pacientes que diseminan gran cantidad de bacilos. Las secreciones nasales son el material infectante más probable para los contactos en la familia. El periodo de incubación es probablemente de 2 a 10 años. Sin profilaxis, casi 10% de los niños expuestos pueden contraer la enfermedad. El tratamiento tiende a reducir y a suprimir la infecciosidad de los pacientes. Armadillos infectados de manera natural se han encontrado en Texas y México, pero probablemente no tienen función alguna en la transmisión de la lepra a los humanos.

Prevención y control

La identificación y el tratamiento de los pacientes con lepra son claves para el control. A los niños de padres presuntamente contagiosos se les administra quimioprofilaxis con fármacos mientras el tratamiento de los padres los convierta en no infectantes. Si algún miembro del grupo familiar padece lepra lepromatosa, se requiere profilaxis para los

niños del grupo. Se investiga la vacunación experimental con BCG y una vacuna de *M. leprae* para los contactos en la familia y posiblemente para los contactos comunitarios en las regiones endémicas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Un hombre de 60 años de edad lleva cinco meses con debilidad progresiva y pérdida de peso de 13 kg junto con fiebre intermitente, escalofríos y una tos crónica que produce esputo amarillo, ocasionalmente con rastros de sangre. Se obtiene una muestra de esputo y en el cultivo se observan numerosas bacterias acidorresistentes. El cultivo del esputo es positivo para *Mycobacterium tuberculosis*. ¿Cuál régimen de tratamiento es el más apropiado para la terapia inicial?
 - Isoniazida y rifampicina
 - Sulfametoxazol/trimetoprim y estreptomina
 - Isoniazida, rifampicina, pirazimida y etambutol
 - Isoniazida, cicloserina y ciprofloxacina
 - Rifampicina y estreptomina
- Si resulta que el aislado de *Mycobacterium tuberculosis* del paciente (pregunta 1) es resistente a la isoniazida, el mecanismo probable para la resistencia es:
 - β -lactamasa
 - Mutaciones en el gen de catalasa-peroxidasa
 - Alteraciones en la subunidad β de la polimerasa de RNA
 - Mutaciones en el gen de girasa de DNA
 - Mutaciones en los genes que codifican a la proteína S12 y rARN 16S
- Una mujer de 47 años de edad se presenta con una historia de tres meses de los progresiva, pérdida de peso y fiebre. En la radiografía de tórax se observa enfermedad cavitaria bilateral que hace pensar en tuberculosis. En el cultivo de esputo crece un bacilo acidorresistente que es un fotocromógeno (elabora un pigmento anaranjado cuando se expone a la luz). El organismo más probable es:
 - Mycobacterium tuberculosis*
 - Mycobacterium kansasii*
 - Mycobacterium goodii*
 - Mycobacterium avium complex*
 - Mycobacterium fortuitum*
- Una mujer asiática de 31 años de edad es admitida al hospital con una historia de siete meses de malestar general creciente, mialgia, tos no productiva y falta de aliento. La paciente todos los días tiene fiebre de 38 a 39 °C y una reciente pérdida de peso de 5 kg. Su radiografía de tórax cuando ingresó a EUA hace siete años fue negativa. La abuela de la paciente murió de tuberculosis cuando ella era niña. Una radiografía de tórax actual es normal; los resultados de las otras pruebas muestran un hematocrito reducido y anomalías de la prueba de función hepática. En las biopsias de hígado y médula ósea se observan granulomas con células gigantes y bacilos acidorresistentes. Es probable que la paciente esté infectada con:
 - Mycobacterium leprae*
 - Mycobacterium fortuitum*
 - Mycobacterium ulcerans*
 - Mycobacterium goodii*
 - Mycobacterium tuberculosis*
- Es muy importante que la paciente también sea evaluada (pregunta 4) con respecto a:
 - VIH/SIDA
 - Fiebre tifoidea
 - Absceso hepático
 - Linfoma
 - Malaria
- En relación con la paciente de la pregunta 4, resulta trascendental que podría estar infectada con un *Mycobacterium* que sea:
 - Susceptible sólo a isoniazida
 - Resistente a estreptomina
 - Resistente a claritromicina
 - Susceptible sólo a ciprofloxacina
 - Resistente a isoniazida y rifampicina
- Se observa un hombre de 40 años de edad que mendiga en una calle de una ciudad de la India. Tiene las uñas de los dedos cuarto y quinto con pérdida de las partes distales de los dedos de ambas manos, lo cual es una fuerte indicación de lepra. El agente causante de esta enfermedad:
 - Es susceptible a isoniazida y rifampicina
 - Crece en partes del cuerpo que tienen una temperatura menor de 37 °C
 - Se pueden cultivar en el laboratorio usando un medio Middlebrook 7H11
 - Se observa en cantidades en las biopsias de lesiones de lepra tuberculoides
 - Por lo común infecta a las personas de Texas, debido a que los armadillos son los huéspedes de *Mycobacterium leprae*
- ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca del derivado purificado de la proteína (PPD) y la prueba cutánea de tuberculina es el más correcto?
 - Se recomienda mucho que los estudiantes de medicina y otros de ciencias de la salud se sometan a pruebas cutáneas de PPD cada cinco años
 - Las personas inmunizadas con BCG rara vez, si acaso, dan pruebas cutáneas positivas de PPD
 - La prueba cutánea intradérmica por lo común se lee 4 h después de ser aplicada
 - Una prueba de tuberculina positiva indica que un individuo ha estado infectado con *Mycobacterium tuberculosis* en el pasado y podría seguir siendo portador de micobacterias viables
 - Una prueba cutánea de PPD positiva indica que una persona es inmune a tuberculosis activa
- Una mujer de 72 años de edad tiene colocada una articulación artificial de cadera debido a una enfermedad degenerativa de las articulaciones. Una semana después del procedimiento, la paciente presenta fiebre y dolor de articulaciones. Se aspira la cadera y el líquido se somete a un cultivo de rutina y a un cultivo en busca de organismos acidorresistentes. Después de dos días de incubación, no hay crecimiento en ninguno de los medios. Sin embargo, después de cuatro días, se observa un crecimiento de bacilos en la placa de agar de sangre de carnero y un crecimiento de bacilos acidorresistentes de apariencia similar en el cultivo de bacterias acidorresistentes. Lo más probable es que la paciente esté infectada con:
 - Mycobacterium tuberculosis*
 - Mycobacterium fortuitum/chelonae*
 - Mycobacterium leprae*
 - Mycobacterium kansasii*
 - Complejo *Mycobacterium avium*
- Un niño de 10 años de edad tiene una infección pulmonar primaria por *Mycobacterium tuberculosis*. ¿Cuál de las siguientes características de tuberculosis es la más correcta?
 - En tuberculosis primaria, se desarrolla una lesión exudativa activa y se difunde rápidamente a los ganglios linfáticos y a los nódulos linfáticos regionales.

- B. La lesión exudativa de tuberculosis primaria suele sanar de manera lenta
- C. Si se presenta tuberculosis años después, es resultado de otra exposición a *Mycobacterium tuberculosis*
- D. En tuberculosis primaria, la respuesta inmune del paciente elimina a los organismos infecciosos de *Mycobacterium tuberculosis*

- E. En la tuberculosis primaria, se prepara el sistema inmune pero la prueba cutánea de PPD es negativa hasta que haya una segunda exposición a *Mycobacterium tuberculosis*

Respuestas: 1 = C; 2 = B; 3 = B; 4 = E; 5 = A; 6 = E; 7 = B; 8 = D; 9 = B; 10 = A.

REFERENCIAS

- Brown BA, Wallace RJ Jr: Infections due to nontuberculous mycobacteria. In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Gelber RH, Rea TH: *Mycobacterium leprae* (leprosy, Hansen's disease). In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Haas DW: *Mycobacterium tuberculosis*. In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Havril DV, Ellner JJ: *Mycobacterium avium* complex. In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Pfiffer GE, Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr: *Mycobacterium*. General characteristics, isolation, and staining procedures. In: Manual of Clinical Microbiology 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Rattan A, Kalia A, Ahmad N: Multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: molecular perspectives. Emerg Infect Dis 1998;4:195.
- Vincent V et al: *Mycobacterium*: Phenotypic and genotypic identification. In: Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.

Espiroquetas y otros microorganismos espirales

Las espiroquetas son un grupo grande y heterogéneo de bacterias espirales y móviles. Una familia (*Spirochaetae*) del orden *Spirochaetales* incluye tres géneros de microorganismos espirales largos y de vida libre. En la otra familia (*Treponemataceae*) se encuentran géneros cuyos miembros incluyen patógenos humanos: 1) *treponema*; 2) *borrelia*, y 3) *leptospira*.

Las espiroquetas poseen muchas características estructurales comunes, siendo el prototipo *Treponema pallidum* (figura 25-1). Son bacilos gramnegativos largos y delgados, enrollados en forma de hélice, espiral o sacacorchos. *T. pallidum* tiene una envoltura externa o vaina de glucosaminoglucano. Dentro de la vaina se encuentra la membrana externa que contiene peptidoglucano y mantiene la integridad estructural de los microorganismos. Los endoflagelos (filamentos axiales) son organelos similares a flagelos situados en el espacio periplásmico limitado por la membrana externa. Los endoflagelos comienzan en cada extremo del microorganismo al que rodean, y se extienden hasta la porción media donde se sobreponen. Encerrada por los endoflagelos se encuentra la membrana interna (membrana citoplásmica) que suministra estabilidad osmótica y cubre el cilindro protoplásmico. Dentro de la célula se encuentra una serie de microtúbulos citoplásmicos (fibrillas corporales) cerca de la membrana interna. El *treponema* se reproduce por fisión transversal.

TREPONEMA

El género *treponema* incluye el *Treponema pallidum* subespecie *pallidum* causante de sífilis; el *Treponema pallidum* subespecie *pertenue*, causante de la frambesia; el *Treponema pallidum* subespecie *endemicum*, causante de la sífilis endémica (también denominada *bejel*); y el *Treponema carateum* causante del mal del pinto.

TREPONEMA PALLIDUM Y SÍFILIS

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Espirales delgadas que miden casi 0.2 μm de ancho y 5 a 15 μm de largo. Las vueltas de la espiral están regularmente espaciadas con una distancia de 1 μm entre ellas. Los microorganismos están dotados de motilidad activa, giran continuamente alrededor de sus endoflagelos aun después de unir sus extremos adelgazados a las células. Por lo regular el eje largo de la espiral es recto, pero a veces puede estar inclinado, de modo que en algunos momentos el microorganismo forma un círculo completo y después retorna a su posición recta normal.

Las espirales son tan delgadas que no pueden observarse con facilidad, salvo mediante tinción inmunofluorescente o iluminación en campo oscuro. No se tiñen bien con colorantes de anilina, pero se pueden observar en los tejidos con métodos de impregnación argéntica.

B. Cultivo

No ha sido posible cultivar el *T. pallidum* patógeno en medio artificial, huevos fertilizados o cultivo de tejido. Los *treponemas* no patógenos (p. ej., la cepa Reiter) pueden cultivarse *in vitro* en condiciones anaeróbicas. Son saprofitos antigénicamente relacionados con *T. pallidum*.

C. Características del crecimiento

El *T. pallidum* es un microorganismo microaerófilo: sobrevive mejor con 1 a 4% de oxígeno. La cepa saprofita Reiter crece sobre un medio definido de 11 aminoácidos, vitaminas, sales, minerales y albúmina del suero.

En suspensión líquida apropiada, y en presencia de sustancias reductoras, el *T. pallidum* puede manifestar motilidad durante 3 a 6 días a 25 °C. En sangre total o plasma almacenado a 4 °C, los microorganismos permanecen viables al menos 24 h, esto tiene importancia para las transfusiones sanguíneas.

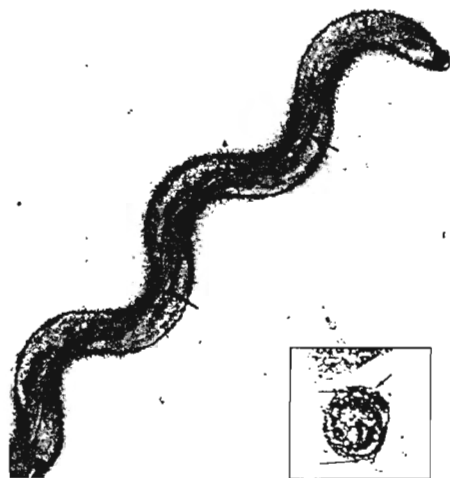


Figura 25-1. Micrografía electrónica de un montaje completo de *Treponema pallidum* subespecie *pallidum*. Se observan con claridad los endoflagelos (EF). Bar = 0.2 μ m. **Recuadro:** micrografía electrónica de un corte delgado de *T. pallidum*. Nótese la posición de los endoflagelos (EF) en el espacio periplásmico situado entre la membrana interna (MI) y la membrana externa (ME). Bar = 50 nm. (Cortesía de Eldon M. Walker, University of Texas, Houston, Health Sciences Center.)

D. Reacciones a agentes físicos y químicos

La desecación mata rápidamente a las espiroquetas, lo mismo sucede cuando la temperatura se eleva a 42 °C. Los treponemas pierden su motilidad y mueren con rapidez por acción de arsenicales trivalentes, mercurio y bismuto (sustancias contenidas en los fármacos de interés histórico utilizados para el tratamiento de la sífilis). La penicilina es treponemocida en concentraciones mínimas, pero la muerte es lenta, presuntamente debido a la inactividad metabólica y escasa tasa de multiplicación de *T. pallidum* (tiempo de división estimado en 30 h). En el tratamiento de la sífilis no se ha demostrado resistencia a la penicilina.

Estructura antigénica

El hecho de que *T. pallidum* no pueda cultivarse *in vitro*, ha limitado notablemente la caracterización de sus antígenos. La membrana externa rodea el espacio periplásmico y el complejo peptidoglucano-membrana citoplásmica. La membrana externa no contiene lipopolisacárido. En la membrana se encuentran proteínas con lípidos unidos a su región amino terminal mediante uniones covalentes. Los lípidos parecen fijar las proteínas a la membrana citoplásmica o a la externa y mantenerlas así inaccesibles a los anticuerpos. Los endoflagelos se encuentran en el espacio periplásmico. El *T. pallidum* subespecie *pallidum* posee una enzima hialuronidasa que desdobra el ácido hialurónico en la sustan-

cia basal del tejido y presuntamente incrementa la invasividad del microorganismo. Los perfiles proteínicos de *T. pallidum* (todas las subespecies) son indistinguibles; se han observado más de 100 antígenos proteínicos. Los endoflagelos se componen de tres proteínas centrales homólogas a la proteína flagelina de otras bacterias, además de una proteína diferente de la vaina. La cardiolipina es un componente lipídico importante de los antígenos treponémicos.

Los enfermos de sífilis desarrollan anticuerpos capaces de teñir al *T. pallidum* por inmunofluorescencia indirecta; de inmovilizar y matar los *T. pallidum* vivos y móviles, y fijar complemento en presencia de una suspensión de *T. pallidum* o espiroquetas semejantes. Las espiroquetas también inducen el desarrollo de una sustancia peculiar similar a un anticuerpo, la reagina, la cual da resultados positivos en las pruebas de floculación y FC (fijación del complemento) con una suspensión acuosa de cardiolipina extraída de tejidos normales de mamífero. Tanto la reagina como el anticuerpo antitreponémico pueden emplearse para el diagnóstico serológico de la sífilis.

Patogenia, patología y datos clínicos

A. Sífilis adquirida

La infección natural con *T. pallidum* se limita al huésped humano. Por lo general, esta infección se transmite por contacto sexual y la lesión infectante se encuentra sobre la piel o las mucosas de los genitales. Sin embargo, en 10 a 20% de los casos la lesión primaria es intrarrectal, perianal u oral; puede encontrarse en cualquier parte del cuerpo. El *T. pallidum* tal vez puede atravesar las mucosas intactas, o penetrar a través de una herida en la epidermis.

Las espiroquetas se multiplican localmente en el sitio de entrada y algunas se propagan a los ganglios linfáticos cercanos y después alcanzan la circulación sanguínea. De 2 a 10 semanas después de la infección aparece una pápula en el sitio infectado, la cual se rompe para formar una úlcera de base dura y limpia ("chancro duro"). La inflamación se caracteriza por el predominio de linfocitos y células plasmáticas. Esta "lesión primaria" siempre cicatriza espontáneamente, pero 2 a 10 semanas más tarde aparecen las lesiones "secundarias". Estas consisten en exantema maculopapular eritematoso en cualquier parte del cuerpo, incluso manos y pies; y pápulas pálidas y húmedas (condilomas) en la región anogenital, axilas y boca. También pueden presentarse meningitis, coriorretinitis, hepatitis, nefritis (tipo complejo inmune) o periostitis sífilíticas. Las lesiones secundarias también ceden de manera espontánea. Tanto las lesiones primarias como las secundarias son ricas en espiroquetas y muy infectantes. Las lesiones contagiosas pueden recidivar 3 a 5 años después de la infección, pero a partir de ese momento la persona ya no es infectante. La infección sífilítica puede permanecer subclínica y el paciente pasa por las etapas primaria o secundaria (o ambas) sin síntomas o signos hasta desarrollar las lesiones terciarias.

En casi 30% de los casos, la infección sífilítica inicial avanza espontáneamente hasta la curación completa sin tratamiento. En otro 30% la infección no tratada permanece latente (detectada sobre todo por pruebas serológicas positivas). En el resto, la enfermedad progresa hasta la "etapa

terciaria" caracterizada por el desarrollo de lesiones granulomatosas (gomas) en piel, huesos e hígado; cambios degenerativos en el sistema nervioso central (sífilis meningovascular, paresia, tabes); o lesiones cardiovasculares (aortitis, aneurisma aórtico, insuficiencia valvular aórtica). En todas las lesiones terciarias los treponemas son muy poco frecuentes y la respuesta excesiva del tejido debe atribuirse a hipersensibilidad a los microorganismos. Sin embargo, en la sífilis tardía los treponemas pueden encontrarse a veces en los ojos o en el sistema nervioso central.

B. Sífilis congénita

Una mujer sífilítica embarazada puede transmitir el *T. pallidum* al feto a través de la placenta: la infección se inicia entre las semanas 10 y 15 de la gestación. Algunos fetos infectados mueren y el resultado es un aborto; otros nacen muertos a término. Otros más nacen vivos, pero desarrollan los signos de sífilis congénita en la infancia: queratitis intersticial, dientes de Hutchinson, nariz en silla de montar, periostitis y varias anomalías del sistema nervioso central. El tratamiento adecuado de la madre durante el embarazo evita la sífilis congénita. Con la infección activa aumenta el título de la reagina en la sangre del niño, pero desaparece con el tiempo si el anticuerpo fue transmitido pasivamente por la madre. En la infección congénita el niño elabora anticuerpos del tipo IgM contra el treponema.

C. Enfermedad experimental

Es posible producir la infección experimental con *T. pallidum* humano en piel, testículos y ojo del conejo. El animal desarrolla un chancro abundante en espiroquetas, y los microorganismos persisten en ganglios linfáticos, bazo y médula ósea durante toda la vida del animal, aunque no presente enfermedad evolutiva.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Líquido tisular obtenido al exprimir las lesiones superficiales tempranas para demostrar espiroquetas; suero sanguíneo para pruebas serológicas.

B. Examen en campo oscuro

Se coloca una gota de líquido tisular o de exudado entre un portaobjetos y un cubreobjetos y se presiona para formar una capa delgada. Enseguida, la preparación se observa con el objetivo de inmersión con iluminación en campo oscuro para detectar espiroquetas típicas motiles.

Después de iniciar el tratamiento con antibióticos los treponemas desaparecen de las lesiones en pocas horas.

C. Inmunofluorescencia

Se extienden líquido o exudado tisular sobre un portaobjetos; éste se seca al aire y se envía al laboratorio. Se fija y tinte con anticuerpos antitreponema marcado con fluoresceína, y se examina con microscopio de inmunofluorescencia en busca de las espiroquetas fluorescentes típicas.

D. Pruebas serológicas para sífilis (PSS)

Estas pruebas utilizan antígenos treponémicos o no treponémicos.

1. **Pruebas con antígenos no treponémicos:** los antígenos empleados son lípidos extraídos del tejido normal de mamíferos. La cardiolípina purificada del corazón de buey es un difosfatidilglicerol. Se añaden lecitina y colestero para incrementar la reacción con anticuerpos de "reagina" sífilíticos. La reagina es una mezcla de IgM e IgA dirigidos contra el complejo cardioliolona-colesterol-lecitina. Las pruebas VDRL (del inglés, *Venereal Disease Research Laboratory*) y RPR (rápida de reagina plasmática) son pruebas de antígeno no treponémicas utilizadas con mucha frecuencia. También se cuenta con las pruebas de reagina sérica no calentada (USR) y la prueba de suero no calentado y rojo de toluidina (TRUST). Las cuatro pruebas se basan en el hecho de que las partículas del antígeno lípido permanecen dispersas con el suero normal, pero floclulan cuando se combinan con reagina. Las pruebas VDRL y USR requieren examen microscópico para detectar la floclulación, en tanto que RPR y TRUST tienen partículas coloridas y se puede hacer una lectura sin ampliación microscópica. Los resultados se presentan en minutos, en particular si se agita la suspensión. Las pruebas se prestan para automatización y para realizar estudios debido a su bajo costo.

Las pruebas VDRL y RPR positivas se desarrollan después de 2 a 3 semanas de infección sífilítica no tratada y son positivas en título alto en sífilis secundaria. Las pruebas VDRL y PRP se vuelven negativas en 6 a 18 meses después del tratamiento efectivo de sífilis. Las pruebas VDRL y PRP también se pueden llevar a cabo en líquido espinal y se vuelven positivas después de 4 a 8 semanas de infección. Los anticuerpos de reagina no llegan al líquido cerebroespinal desde el flujo sanguíneo, aunque es probable que se formen en el sistema nervioso central en respuesta a la infección sífilítica.

Las pruebas de floclulación pueden dar resultados cuantitativos. Es posible estimar la cantidad de reagina presente en el suero si la prueba se efectúa con dobles diluciones del suero y el título se expresa como la dilución mayor que da resultado positivo. Los resultados cuantitativos son valiosos para establecer el diagnóstico, sobre todo en neonatos, y para evaluar el efecto del tratamiento.

Las pruebas no treponémicas están sujetas a resultados "biológicos" falsos positivos que se atribuyen a la presencia de "reaginas" en diversas enfermedades, entre las que destacan algunas infecciones (paludismo, lepra, sarampión, mononucleosis infecciosa, etc.), vacunaciones, enfermedades de la colágena vascular (lupus eritematoso sistémico, poliarteritis nodosa, enfermedades reumáticas), y otras condiciones clínicas.

2. **Pruebas con anticuerpos treponémicos:**

a. **Pruebas con anticuerpo fluorescente para treponema (FTA-ABS).** Esta es una prueba que usa la inmunofluorescencia indirecta (*T. pallidum* muerto + suero del paciente + gammaglobulina antihumana marcada) y muestra especificidad y sensibilidad excelentes para los anticuerpos en la sífilis si el suero del paciente se absorbe con espiroquetas Reiter sonicadas antes de la prueba FTA. La prueba FTA-ABS es la primera en volverse positiva en la sífilis

temprana, de manera rutinaria es positiva en la sífilis secundaria y, por lo común, es positiva muchos años después del tratamiento efectivo. Esta prueba no puede emplearse para juzgar la eficacia del tratamiento. La presencia de IgM FTA en la sangre de los recién nacidos es una buena evidencia de infección *in utero* (sífilis congénita).

- b. **Prueba de aglutinación de partículas para *Treponema pallidum*.** Las partículas de gelatina se sensibilizan con antígenos *pallidum* de subespecies de *T. pallidum*. La prueba se lleva a cabo en una bandeja de microdilución con suero diluido. Los anticuerpos contra *T. pallidum* reaccionan con las partículas de gelatina sensibilizadas. Una esterilla de partículas aglutinadas indica un resultado positivo. Esta prueba es similar a la prueba FTA-ABS en especificidad y sensibilidad.

Inmunidad

Las personas con sífilis activa o latente, o frambesia, parecen ser resistentes a la sobreinfección con *T. pallidum*. Sin embargo, si la sífilis temprana o la frambesia se tratan de manera adecuada y se erradica la infección, la persona vuelve a ser susceptible una vez más. Las diferentes respuestas inmunitarias generalmente fracasan para erradicar la infección o detener su avance.

Tratamiento

La penicilina en concentraciones de 0.003 unidades/mL muestra una evidente actividad treponemática, y es el tratamiento de elección. La sífilis con duración menor de un año se trata mediante una sola inyección intramuscular de penicilina G benzatínica. En la sífilis más antigua o en la latente, la penicilina G benzatínica intramuscular se administra tres veces con intervalos de una semana. En la neurosífilis, el mismo tratamiento es aceptable, pero a veces se recomiendan cantidades mayores de penicilina intravenosa. En ocasiones se utilizan otros antibióticos (p. ej., tetraciclinas o eritromicinas) en lugar de penicilina. Se estima que el tratamiento de la gonorrea puede curar la sífilis en etapa de incubación. Es indispensable la vigilancia prolongada. En la neurosífilis, a veces los treponemas sobreviven al tratamiento. Los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) infectados con VIH y *T. pallidum* pueden sufrir recaídas neurológicas graves después de una sífilis tratada. Después de iniciar el tratamiento también puede aparecer, en cuestión de horas, una reacción típica de Jarisch-Herxheimer. Esto se debe a la liberación de productos tóxicos a partir de las espiroquetas moribundas o muertas.

Epidemiología, prevención y control

Con excepción de la sífilis congénita y la rara exposición ocupacional del personal médico, la sífilis se contrae a través de contagio sexual. Es común la reinfección en las personas tratadas. Una persona infectada puede ser contagiosa

hasta 3 a 5 años durante la sífilis "temprana". La sífilis "tarde", más de cinco años de duración, por lo general no es contagiosa. Por consiguiente, las medidas de control dependen de: 1) tratamiento oportuno y adecuado de todos los casos descubiertos; 2) seguimiento hasta las fuentes de infección y los contactos, de modo que puedan recibir tratamiento; 3) se recomienda el uso del condón durante las prácticas sexuales. En el contacto sexual se pueden transmitir simultáneamente varias enfermedades. Por tanto, ante cualquier enfermedad de transmisión sexual es importante considerar la posibilidad de sífilis.

ENFERMEDADES RELACIONADAS CON LA SÍFILIS

Estas enfermedades están causadas por treponemas indistinguibles de *T. pallidum*. Todas dan pruebas serológicas positivas a sífilis, treponémicas y no treponémicas; es posible demostrar una cierta inmunidad cruzada en animales de experimentación y tal vez en humanos. Ninguna es una enfermedad transmitida por vía sexual; en general todas se transmiten por contacto directo. Ninguno de los microorganismos causantes se ha cultivado sobre medios artificiales.

Bejel

El Bejel (debido a *T. pallidum* subespecie *endemicum*) se observa principalmente en África, pero también en Medio Oriente, el sureste de Asia y otras partes, en particular entre los niños, y produce lesiones cutáneas muy infectantes; las complicaciones viscerales tardías son poco comunes. La penicilina es el fármaco de elección.

Frambesia

En muchos países tropicales húmedos y de clima caliente la frambesia es endémica, sobre todo en los niños. *T. pallidum* subespecie *pertenue* es la causa. La lesión primaria, una pápula ulcerativa, generalmente se presenta sobre brazos o piernas. En los niños menores de 15 años de edad se transmite por contacto de una persona a otra. No hay infección congénita transmitida a través de la placenta. Son comunes la formación de cicatrices en las lesiones cutáneas y la destrucción del hueso, pero las complicaciones viscerales o del sistema nervioso son muy raras. Se ha debatido si la frambesia representa una variante de la sífilis adaptada a la transmisión por medios no sexuales en clima caliente. Al parecer existe inmunidad cruzada entre la frambesia y la sífilis. Los procedimientos diagnósticos y el tratamiento son similares a los de sífilis. La respuesta al tratamiento con penicilina es espectacular.

Mal del pinto

El *Treponema carateum* es la causa del mal del pinto y es endémico en todos los grupos de edad en México, Centro y

Sudamérica, Filipinas y algunas regiones del Pacífico. La enfermedad parece restringirse a razas de color oscuro. La lesión primaria, una pápula no ulcerativa, se presenta en las áreas expuestas. Meses más tarde aparecen lesiones planas e hiperpigmentadas sobre la piel: años después tienen lugar despigmentación e hiperqueratosis. Muy pocas veces ocurre afección tardía de los sistemas cardiovascular y nervioso. El mal del pinto se transmite por medios no sexuales, ya sea por contacto directo o mediante la intervención de moscas o jejenes. El diagnóstico y el tratamiento son iguales que para la sífilis.

Sífilis del conejo

La sífilis del conejo (infección por *Treponema cuniculi*) es una infección natural que se transmite sexualmente en conejos y que produce lesiones menores en los genitales. El microorganismo causal es morfológicamente indistinguible del *T. pallidum*; y puede generar confusión en el trabajo experimental.

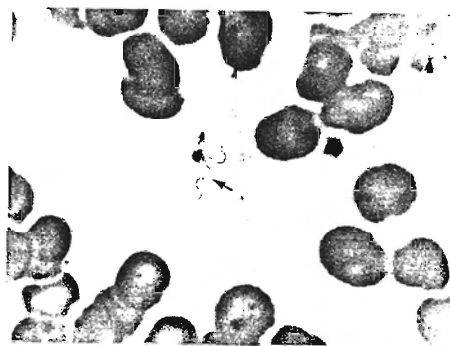


Figura 25-2. *Borrelia recurrentis* (flecha) en un frotis de sangre periférica de un paciente con fiebre recidivante.

en el embrión de pollo cuando se inoculara sangre del paciente sobre la membrana corioalantoidea.

C. Características de crecimiento

Poco se sabe de los requerimientos metabólicos o de la actividad de las borrelias. A 4 °C, los microorganismos sobreviven durante varios meses en la sangre infectada o en el cultivo. En algunas garrapatas (pero no en piojos) las espiroquetas pasan de una generación a la siguiente.

D. Variación

La única variación significativa de las borrelias es con respecto a su estructura antigénica.

Estructura antigénica

Después de la infección con borrelia se desarrollan anticuerpos en títulos altos. La estructura antigénica de los microorganismos cambia en el curso de una sola infección. Los anticuerpos producidos actúan inicialmente como factor selectivo que sólo permiten la supervivencia de variantes antigénicamente distintas. La evolución recidivante de la enfermedad al parecer se debe a la multiplicación de estas variantes antigénicas, contra las cuales el huésped debe entonces desarrollar nuevos anticuerpos. La recuperación final (después de 3 a 10 recaídas) se acompaña de la presencia de anticuerpos a distintas variedades antigénicas.

Patología

En los casos mortales se encuentran gran número de espiroquetas en bazo e hígado, focos de necrosis en otros órganos parenquimatosos y lesiones hemorrágicas en los riñones y en el aparato gastrointestinal. En ocasiones se demuestran las espiroquetas en el líquido cefalorraquídeo y en el cerebro de las personas que han padecido meningitis. En los animales de experimentación (cobayos, ratas) el cerebro puede servir como reservorio de borrelias una vez desaparecidas éstas de la sangre.

BORRELIA

ESPECIES DE BORRELIA Y FIEBRE RECIDIVANTE

En su variante epidémica, la fiebre recidivante es causada por *Borrelia recurrentis* y transmitida por el piojo del cuerpo humano; no se encuentra en EUA. Las borrelias transmitidas por garrapatas del género *Ornithodoros* causan la fiebre recidivante endémica; con frecuencia el nombre de las especies del género borrelia es igual al de la garrapata. Por ejemplo, la *Borrelia hermsii*, causante de la fiebre recidivante en el oeste de EUA se transmite por la *Ornithodoros hermsii*.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las borrelias forman espirales irregulares de 10 a 30 µm de longitud y 0.3 µm de ancho. La longitud entre las espiras varía de 2 a 4 µm. Los microorganismos son muy flexibles y se mueven tanto por rotación como por flexión. Las borrelias son fáciles de teñir con colorantes bacteriológicos y también con tinciones para sangre como los colorantes de Giemsa o de Wright.

B. Cultivo

El microorganismo puede cultivarse en medios líquidos que contengan sangre, suero o tejidos (figura 25-2); pero pierden rápidamente su patogenicidad para animales cuando se resiembran repetidamente *in vitro*. Se multiplica con rapidez

Patogenia y datos clínicos

El periodo de incubación es de 3 a 10 días. El inicio es súbito, con escalofríos y elevación brusca de la temperatura. En ese momento, las espiroquetas abundan en la sangre. La fiebre persiste durante 3 a 5 días y luego declina; el paciente queda débil, pero no enfermo. El periodo afebril dura 4 a 10 días y va seguido por un segundo ataque de escalofríos, fiebre, cefalea intensa y malestar. Se presentan 3 a 10 de estas recaídas, en general de gravedad decreciente. Durante las etapas febriles (en especial cuando la temperatura se eleva) se encuentran microorganismos en la sangre; en los periodos afebriles los microorganismos están ausentes.

Durante la etapa febril aparecen anticuerpos contra las espiroquetas, y éstos tal vez terminan el ataque por sus efectos aglutinantes y líticos. Estos anticuerpos pueden seleccionar variantes antigénicamente distintas que se multiplican y causan recaídas. En un solo paciente pueden aislarse diferentes variedades antigénicas de *Borrelia* durante las recaídas secuenciales, incluso después de la inoculación experimental con un solo microorganismo.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Sangre obtenida durante la elevación de la fiebre, para frotis e inoculación en animales.

B. Frotis

Frotis delgados o gruesos de sangre teñida con colorante de Wright o de Giemsa revelan, entre los eritrocitos, espiroquetas largas y de espirales separadas.

C. Inoculación en animales

Se inocula sangre por vía intraperitoneal a ratones blancos o ratas jóvenes. Los frotis de la sangre teñida de la cola del animal se examinan en busca de espiroquetas 2 a 4 días más tarde.

D. Serología

Las espiroquetas crecidas in cultivo pueden servir como antígenos para pruebas de FC, pero es difícil preparar antígenos satisfactorios. Los pacientes afectados por la variante epidémica (transmitida por piojos) de la fiebre recidivante desarrollan a veces una prueba VDRL positiva.

Inmunidad

La inmunidad subsecuente a la infección en general es de corta duración.

Tratamiento

La gran variabilidad de las remisiones espontáneas de la fiebre recidivante hace difícil evaluar la eficacia de la quimioterapia. Se cree que la tetraciclina, la eritromicina y la penicilina son eficaces. El tratamiento durante un solo día puede ser suficiente para terminar un ataque individual.

Epidemiología, prevención y control

La fiebre recidivante es endémica en muchas partes del mundo. El principal reservorio es la población de roedores que sirven como fuente de infección para las garrapatas del género *Ornithodoros*. La distribución de focos endémicos y la incidencia estacional de la enfermedad se determinan principalmente por la ecología de la garrapata en diferentes áreas. En E.U.A. se encuentran garrapatas infectadas en todo el Oeste, especialmente en las regiones montañosas, pero los casos clínicos se presentan con poca frecuencia. En la garrapata, la *Borrelia* se puede transmitir a través de huevecillos de una generación a la siguiente.

Las espiroquetas se encuentran en todos los tejidos de la garrapata y pueden transmitirse por mordedura o machacamiento de este animal. La enfermedad transmitida por la garrapata no es epidémica. Sin embargo, cuando el individuo infectado tiene piojos, éstos se infectan al succionar sangre; 4 a 5 días más tarde ya pueden ser fuente de infección para otras personas. La infección procedente de los piojos no se transmite a la siguiente generación y la enfermedad se produce por frotamiento de los piojos machacados en las heridas o por la picadura del piojo. En las poblaciones infestadas con piojos pueden presentarse epidemias graves, y la transmisión se favorece por el hacinamiento, la desnutrición y el clima frío.

En las áreas endémicas, la infección humana a veces se produce por contacto con la sangre y los tejidos de roedores infectados. En la enfermedad endémica la tasa de mortalidad es baja, pero en las epidemias puede alcanzar 30%.

La prevención se basa en evitar la exposición a garrapatas y piojos, y en eliminar a estos últimos (limpieza, insecticidas).

BORRELIA BURGDOFFERI Y ENFERMEDAD DE LYME

Esta enfermedad se denomina así por el pueblo de Lyme, Connecticut, donde se identificó el primer grupo de casos. La causa es una espiroqueta (la *Borrelia burgdorferi*) y se transmite a los humanos por la mordedura de una pequeña garrapata del género *Ixodes*. Las manifestaciones iniciales de la enfermedad son: lesión cutánea característica, eritema migratorio y síntomas gripales; las manifestaciones tardías son con frecuencia artralgia y artritis.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

La *B. burgdorferi* es un microorganismo espiral de 20 a 30 µm de longitud y 0.2 a 0.3 µm de ancho. La distancia entre las espiras varía de 2 a 4 µm. Los microorganismos muestran un número variable de endorreglos (7 a 11) y están dotados de gran movilidad. Las *B. burgdorferi* se tiñen con facilidad con colorantes ácidos de anilina y técnicas de impregnación de plata.

B. Cultivo y características de crecimiento

B. burgdorferi crece mejor en un medio líquido complejo, el medio de Barbour-Stoenner-Kelly (BSK II). Rifampicina, fosfomicina (fosfomicina), y anfotericina B se pueden agregar a BSK II con el fin de reducir el índice de contaminación del cultivo por otras bacterias y hongos. *B. burgdorferi* se ha logrado aislar con mayor facilidad de lesiones cutáneas de eritema migratorio; el aislamiento del organismo a partir de otros sitios ha sido muy difícil. El organismo también se puede cultivar a partir de garrapatas. Debido a que el cultivo de este organismo es un procedimiento complejo y especializado, con una utilidad diagnóstica limitada, pocas veces se utiliza.

Estructura y variación antigénica

B. burgdorferi posee un aspecto morfológico similar al de otras espiroquetas. El genoma entero de *B. burgdorferi* ya fue secuenciado, lo cual permite la predicción de muchas estructuras antigénicas. Existe un cromosoma lineal inusual de casi 950 kb y múltiples plásmidos lineales y circulares. Existe un gran número de secuencias codificadoras de lipoproteínas, incluyendo las proteínas de la superficie externa OspA-F. La expresión diferencial de estas proteínas se cree que le confieren a *B. burgdorferi* su capacidad para habitar en las diversas clases de garrapatas y huéspedes mamíferos. OspA y OspB, junto con la lipoproteína 6.6, se expresan principalmente en la garrapata. Otras proteínas de la superficie externa se regulan positivamente durante la alimentación de la garrapata, cuando el organismo migra del intestino medio del animal hacia la glándula salival. Esto podría explicar por qué es necesario que la garrapata se alimente durante un período de 24 a 48 h antes de que tenga lugar la transmisión de *B. burgdorferi*.

Patogenia y datos clínicos

En los humanos, la transmisión de la *B. burgdorferi* tiene lugar por inyección del microorganismo presente en la saliva de la garrapata o por regurgitación del contenido del intestino medio de este animal. El microorganismo se adhiere a los proteoglicanos sobre las células huésped; la adherencia está mediada por un receptor glucosaminoglucano de la borrelia. Después que la garrapata inyecta el microorganismo, éste se aleja del sitio de entrada y produce la lesión cutánea característica. La diseminación tiene lugar por los linfáticos o la sangre hasta otras regiones de la piel y del sistema musculoesquelético, así como de muchos otros órganos.

La enfermedad de Lyme, igual que las producidas por otras espiroquetas, se presenta en etapas con manifestaciones iniciales y tardías. La etapa inicial con frecuencia se caracteriza por lesión cutánea única que aparece de 3 días a 4 semanas después de la mordedura de la garrapata. La lesión se denomina eritema migratorio y se inicia con un área eritematosa plana cerca del sitio de la mordedura que se extiende lentamente, con aclaramiento central. Junto con la lesión cutánea con frecuencia también se observa una enfermedad parecida a un cuadro gripal, con fiebre, escalos-

fríos, mialgia y cefalea. La segunda etapa se presenta semanas o meses más tarde e incluye artralgia y artritis; manifestaciones neurológicas con meningitis, parálisis del nervio facial y radiculopatía dolorosa; y enfermedad cardíaca con defectos de conducción y miopericarditis. La tercera etapa se inicia meses o años más tarde, con afección crónica en piel, sistema nervioso o articulaciones. Se han aislado espiroquetas de todos estos sitios, y es probable que algunas de las manifestaciones tardías se deban al depósito de complejos antígeno-anticuerpo.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

En algunos pacientes sintomáticos el diagnóstico de la enfermedad de Lyme inicial se puede establecer clínicamente al observar la lesión cutánea peculiar del eritema crónico migratorio. En ausencia de lesión cutánea y en las últimas etapas de la enfermedad, la cual debe diferenciarse de muchas otras enfermedades, es necesario efectuar pruebas diagnósticas de laboratorio. Sin embargo, no hay prueba alguna que sea sensible y específica.

A. Muestras

Se obtiene sangre para pruebas serológicas. También se debe recolectar líquido cefalorraquídeo o líquido articular, pero en general no se recomienda el cultivo. Éstas y otras muestras pueden emplearse para detectar el DNA de *B. burgdorferi* mediante la reacción en cadena de la polimerasa.

B. Frotis

La *B. burgdorferi* se puede encontrar en muestras de biopsia, pero el examen de los frotis teñidos es un método insensible para el diagnóstico de la enfermedad de Lyme. A veces se puede identificar la *B. burgdorferi* en los cortes de tejido mediante el uso de anticuerpos y métodos inmunohistoquímicos.

C. Cultivo

El cultivo generalmente no se realiza, porque tarda de 6 a 8 semanas en completarse y carece de sensibilidad.

D. Sondas moleculares

Se puede aplicar la reacción en cadena de la polimerasa para detectar el DNA de *B. burgdorferi* en muchos líquidos del cuerpo. Es rápida, muy sensible y específica, pero no puede diferenciar entre el DNA de *B. burgdorferi* viva en la enfermedad activa y el DNA de la bacteria muerta en la enfermedad tratada o inactiva. Posee una sensibilidad de alrededor de 55% si se aplica a muestras de líquido sinovial, aunque la sensibilidad es mucho menor cuando se aplica a muestras de líquido cefalorraquídeo de pacientes con neuroborreliosis.

E. Serología

El uso de la serología es la base fundamental para el diagnóstico de la enfermedad de Lyme, pero 3 a 5% de las personas normales y de personas con otras enfermedades (p. ej., artritis reumatoide, muchas enfermedades infecciosas) pueden ser seropositivos en algunos análisis. Debido a la baja prevalencia de la enfermedad de Lyme, es mucho ma-

yor la probabilidad de que una persona positiva a la prueba no padezca la enfermedad de Lyme, en comparación con una persona que sí padezca la enfermedad (el valor predictivo del resultado positivo es del orden de 1 a 2%). Por tanto, la serología para la enfermedad de Lyme se debe realizar únicamente cuando existen hallazgos clínicos muy sugestivos y, además, el diagnóstico de la enfermedad de Lyme no se debe fundamentar en una prueba positiva en ausencia de tales hallazgos clínicos.

Las pruebas más ampliamente utilizadas son la prueba indirecta con anticuerpos fluorescentes (IFA) y el análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas (EIA o ELISA). Se encuentran en el mercado muchas variantes de estos ensayos, las cuales utilizan diferentes preparaciones de antígenos, técnicas y puntos de corte. El análisis de *immunoblot* (*Western blot*) a veces se realiza para confirmar los resultados obtenidos por otras pruebas. Los antígenos de la *B. burgdorferi* se separan por medio de electroforesis, se transfieren a una membrana de nitrocelulosa y se someten a reacción con el suero de los pacientes. La interpretación del *immunoblot* se basa en el número y peso molecular de los anticuerpos que reaccionan con las proteínas de la *B. burgdorferi*.

Inmunidad

La respuesta inmunológica de *B. burgdorferi* se desarrolla lentamente. El suero de fase aguda resulta positivo en 30 a 40% de los pacientes, y el suero obtenido 2 a 4 semanas después de la fase aguda resulta positivo en 60 a 70%. En las semanas 4 a 6 después de la infección, alrededor de 90% de los pacientes presentan IgG reactiva a *B. burgdorferi*. La respuesta de anticuerpos continúa y se extiende durante varios meses hasta años y parece dirigirse de manera secuencial contra un grupo de proteínas de *B. burgdorferi*, que culminará en el desarrollo de anticuerpos IgG específicos para OspA y OspB. El tratamiento antimicrobiano temprano disminuye la respuesta de los anticuerpos. Los títulos de anticuerpos disminuyen lentamente después del tratamiento, aunque la mayoría de los pacientes con manifestaciones tardías de enfermedad de Lyme permanecen seropositivos durante años.

Tratamiento

La infección temprana, local o diseminada, se debe tratar con doxiciclina o amoxicilina —o alguna otra alternativa— durante 20 a 30 días. La tetraciclina o la penicilina alivian los síntomas iniciales y favorecen la resolución de las lesiones cutáneas. La doxiciclina puede ser más eficaz que la amoxicilina para evitar las manifestaciones tardías. La artritis establecida puede responder a dosis grandes de penicilina. En los casos refractarios es eficaz la ceftriaxona. Casi 50% de los pacientes tratados con doxiciclina o amoxicilina al inicio de la enfermedad de Lyme presentan complicaciones tardías mínimas (cefalea, dolores articulares, etc.). La artritis de Lyme de duración prolongada puede tratarse con doxiciclina o amoxicilina y probenecid durante 30 días o más.

Epidemiología, prevención y control

Una pequeña garrapata del género *Ixodes* transmite la *B. burgdorferi*. En el noreste y medio oeste de EUA, el vector es *Ixodes scapularis* (también denominado *Ixodes dammini*) y en la costa oeste es *Ixodes pacificus*. En Europa, el vector es *Ixodes ricinus*, y en algunas regiones del mundo adquieren importancia otras garrapatas vectores. Los ratones y los venados son los principales reservorios animales de la *B. burgdorferi*, pero también se han infectado otros roedores y aves. En la parte oriental de EUA, 10 a 50% de las garrapatas están infectadas, en tanto que en los estados del oeste la tasa de infección en garrapatas es mucho menor, casi 2%.

La mayor parte de las exposiciones ocurren desde mayo hasta julio, cuando las garrapatas están en su etapa más activa, la de ninfa; sin embargo, en sus etapas de larva (agosto a septiembre) y de adulto (primavera y otoño) también se alimentan de los humanos y pueden transmitir la *B. burgdorferi*.

La prevención se basa en evitar la exposición a las garrapatas. Se recomienda el uso de mangas y pantalones largos, estos últimos dentro de las calcetas. El examen cuidadoso de la piel en búsqueda de garrapatas después de haber permanecido fuera de casa puede localizar los bichos para su extracción antes de que transmitan a *B. burgdorferi*.

El control ambiental de garrapatas utilizando la aplicación de insecticidas proporciona sólo un éxito modesto en cuanto a reducción del número de garrapatas en estado de ninfa durante una estación.

La vacuna de OspA tiene una eficacia de 66 a 76% o mayor y se elaboró para personas que viven o trabajan en áreas endémicas. La vacuna ha sido retirada.

LEPTOSPIRA Y LEPTOSPIROSIS

La leptospirosis es una zoonosis de distribución mundial causada por espiroquetas del género *Leptospira*. El sistema tradicional de clasificación se fundamenta en la especificidad bioquímica y serológica, para diferenciar entre la especie patogénica, *Leptospira interrogans*, y la especie no patogénica de vida libre, *Leptospira biflexa*. Las especies se subdividen en al menos 200 serovares, en tanto que *L. biflexa* posee más de 60 serovares. Los serovares después se organizan en serogrupos de *L. interrogans* y serogrupos de *L. biflexa*. Los serogrupos se basan en la antigenicidad compartida y principalmente son de uso en laboratorio.

Un segundo sistema de clasificación se basa en estudios de hibridación DNA-DNA, los cuales han demostrado un alto grado de heterogeneidad en las dos especies de la clasificación tradicional. Existen tres géneros de acuerdo con la clasificación que utiliza la relación de DNA: tales géneros son *Leptospira* y dos géneros no patogénicos. El género *Leptospira* contiene varias especies de patógenos y no patógenos que no corresponden a las especies en la clasificación tradicional.

La clasificación serológica tradicional posee limitantes a nivel molecular, aunque es de gran utilidad en epidemiología; no obstante, la identificación serológica no se puede utilizar para predecir la identificación molecular. El

estudio que se presenta a continuación utiliza la clasificación tradicional.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Las leptospiiras son espiroquetas enrolladas apretadamente, delgadas y flexibles, de 5 a 15 μm de longitud, con espirales muy finas de 0.1 a 0.2 μm de ancho. Con frecuencia, uno de los extremos del microorganismo se dobla y forma un gancho. Estos organismos tienen una gran motilidad que se puede observar mejor por medio de un microscopio con campo oscuro. La micrografía electrónica muestra un delgado filamento axial y una delicada membrana. La espiroqueta es tan delicada que vista en el campo oscuro puede aparecer sólo como una cadena de cocos diminutos. No se tiñe con facilidad pero puede ser impregnada con plata.

B. Cultivo

Las leptospiiras crecen mejor en condiciones aeróbicas entre 28 a 30 °C en medio semisólido abundante en proteínas (Fletcher, Stuart, otros). Después de 1 a 2 semanas, las leptospiiras producen una zona difusa de crecimiento cercana al extremo superior del tubo, para después formar un anillo de crecimiento a un nivel en el tubo correspondiente al nivel de la tensión de oxígeno óptima para estos organismos. Los medios de cultivo pueden ser selectivos para leptospiiras al adicionar neomicina o 5-fluorouracilo.

C. Requerimientos de crecimiento

Las leptospiiras obtienen su energía de la oxidación de ácidos grasos de cadena larga y no pueden emplear aminoácidos o carbohidratos como fuente principal de energía. Las sales de amonio son una fuente principal de nitrógeno. La

leptospiira puede sobrevivir durante semanas en agua, en particular con pH alcalino.

Estructura antigénica

Las principales cepas (variedades serológicas) de *Leptospira interrogans* aisladas de animales o de humanos en diferentes partes del mundo (cuadro 25-1) están serológicamente relacionadas y muestran notable reactividad cruzada en las pruebas serológicas. Esto indica una considerable sobreposición en la estructura antigénica, y para un estudio serológico específico se requieren pruebas cuantitativas con estudios de absorción de anticuerpos. La envoltura externa contiene grandes cantidades de lipopolisacárido (LPS) de estructura antigénica, y que varía de una cepa a otra. Esta variación constituye la base para la clasificación serológica de las especies leptospiiras; y también determina la especificidad de la respuesta inmune humana a las leptospiiras.

Patogenia y datos clínicos

La infección humana se produce generalmente por ingestión de agua y alimentos contaminados con leptospiira. Pocas veces, los microorganismos pueden penetrar a través de las mucosas o de las heridas en la piel. Después de un periodo de incubación de 1 a 2 semanas, la enfermedad se inicia con un periodo febril variable durante el cual las espiroquetas pueden encontrarse en el torrente sanguíneo. Éstas se establecen en órganos parenquimatosos (en particular hígado y riñones), produciendo hemorragia y necrosis de los tejidos y dando lugar a la disfunción de estos órganos (ictericia, hemorragia, retención de nitrógeno). Con frecuencia, la enfermedad es bifásica. Después de una me-

Cuadro 25-1. Principales enfermedades por leptospiiras

Variedades serológicas de <i>L. interrogans</i> ¹	Fuente de infección	Enfermedad en humanos	Datos clínicos	Distribución
<i>L. autumnalis</i>	?	Fiebre pretibial o fiebre de Fort Bragg	Fiebre, exantema tibial	EUA, Japón
<i>L. ballum</i>	Ratones	—	Fiebre, erupción, ictericia	EUA, Europa, Israel
<i>L. bovis</i>	Ganado, ratón silvestre	—	Fiebre, postración	EUA, Israel, Australia
<i>L. canicola</i>	Orina de perro	Ictericia infecciosa	Enfermedad gripal, meningitis aséptica	En todo el mundo
<i>L. grippotyphosa</i>	Roedores, agua	Fiebre de los pantanos	Fiebre, postración, meningitis aséptica	Europa, EUA, África
<i>L. hebdomadis</i>	Ratas, ratones	Fiebre de los siete días	Fiebre, ictericia	Japón, Europa
<i>L. icterohaemorrhagiae</i>	Orina de rata, agua	Enfermedad de Weil	Ictericia, hemorragias, meningitis aséptica	En todo el mundo
<i>L. mitis</i>	Cerdos	Enfermedad de los ganaderos	Meningitis aséptica	Australia
<i>L. pomona</i>	Cerdos, ganado	Enfermedad de los ganaderos	Fiebre, postración, meningitis aséptica	Europa, EUA, Australia

¹ Antes denominadas especies.

joría inicial, se desarrolla la segunda fase cuando aumentan los títulos de anticuerpos IgM. Casi siempre se manifiesta como "meningitis aséptica" con cefalea intensa, rigidez de cuello y pleocitosis en líquido cefalorraquídeo. Pueden recidivar la nefritis y la hepatitis, y aparecer lesiones cutáneas, musculares y oculares. El grado y la distribución de la afección de órganos varían en las diversas enfermedades producidas por diferentes leptospiras en varias partes del mundo (cuadro 25-1). Muchas infecciones son leves o subclínicas. La hepatitis es frecuente en pacientes con leptospirosis. Casi siempre se acompaña de aumento de la creatinfosfocinasa del suero, en tanto que esta enzima se presenta en concentraciones normales en la hepatitis viral.

En muchas especies animales la afección renal es crónica y elimina gran número de leptospiras en la orina; tal vez ésta es la principal fuente de contaminación de los humanos. La orina del humano también contiene espiroquetas en la segunda y tercera semanas de la enfermedad.

Durante la infección se desarrollan aglutininas. FC y anticuerpos líticos. El suero de pacientes convalecientes protege a los animales de experimentación contra la infección, que de otra manera sería mortal. En humanos y animales la inmunidad resultante de la infección parece ser específica de la variedad serológica.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras consisten en sangre recolectada de manera aséptica en un tubo con heparina, líquido cefalorraquídeo o tejidos que serán examinados con microscopio y se cultivarán. La orina se debe recolectar con gran cuidado para evitar la contaminación de la muestra. El suero se colecta para realizar pruebas de aglutinación.

B. Examen microscópico

El examen en campo oscuro o el frotis grueso teñido con técnica Giemsa muestran en ocasiones leptospiras en la sangre fresca proveniente de la infección inicial. El examen en campo oscuro de la orina centrifugada también puede ser positivo. También se pueden utilizar anticuerpos conjugados con fluoresceína u otras técnicas inmunohistoquímicas.

C. Cultivo

La sangre total fresca u orina se puede cultivar en un medio semisólido de Fletcher o en algún otro apropiado. Es necesario el uso de medios selectivos y no selectivos. Debido a las sustancias inhibitorias presentes en la sangre, únicamente se deben aplicar 1 o 2 gotas en cada uno de los cinco tubos que contienen 5 mL del medio de cultivo. Se pueden emplear hasta 0.5 mL de líquido cefalorraquídeo. Una gota de orina sin diluir se puede utilizar por cada gota de orina diluida 10 veces de manera seriada para obtener un total de cuatro tubos. Como inóculo se deben utilizar 5 mm de diámetro del tejido que se va a estudiar, previamente machacado. El crecimiento es lento y el cultivo debe mantenerse al menos durante 8 semanas.

D. Inoculación en animales

Una técnica sensible para aislar leptospiras consiste en la inoculación intraperitoneal de plasma fresco u orina a cri-

setos o cobayos jóvenes. En pocos días se pueden demostrar las espiroquetas en la cavidad peritoneal; después de la muerte del animal (8 a 14 días), en muchos órganos se observan lesiones hemorrágicas con espiroquetas.

E. Serología

Los anticuerpos aglutinantes que alcanzan títulos muy altos (1:10 000 o mayores) se desarrollan con lentitud en la infección con leptospiras, alcanzan su máximo en 5 a 8 semanas después de la infección. El estándar de laboratorio de referencia para la detección del anticuerpo leptospiral utiliza aglutinación microscópica de organismos vivos. Es muy sensible pero puede ser peligroso. La aglutinación de suspensiones vivas es más específica para las variedades serológicas de leptospiras infecciosas. La hemaglutinación de los eritrocitos con leptospira absorbido se utiliza algunas veces. También se ha descrito una variedad de inmunoensayos enzimáticos. Debido a la variación geográfica en la distribución de variedades serológicas, las pruebas pueden tener distintas sensibilidades y especificidades en diferentes áreas geográficas.

Inmunidad

Después de la infección se desarrolla una inmunidad contra la serovariedad específica, pero puede presentarse reinfección con otras variedades serológicas.

Tratamiento

El tratamiento de la leptospirosis leve debe ser doxiciclina, ampicilina o amoxicilina vía oral; el tratamiento de la enfermedad de moderada a grave es penicilina o ampicilina vía intravenosa.

Epidemiología, prevención y control

La leptospirosis es esencialmente una infección de animales; la infección en humanos es accidental, después de contacto con agua y otros materiales contaminados con excretas de los animales huésped. Ratas, ratones, roedores silvestres, perros, cerdos y ganado bovino son las principales fuentes de la infección humana. Estos animales excretan leptospiras en orina y heces durante la enfermedad activa y en el estado de portador asintomático. En agua estancada, las leptospiras permanecen viables durante varias semanas; el agua potable, de las albercas, del baño o los alimentos contaminados pueden provocar la infección en humanos. Tal vez las personas que tienen más contacto con agua contaminada por ratas (p. ej., mineros, trabajadores de drenajes, granjeros, pescadores) corren mayor riesgo de infección. Los niños contraen la infección a partir de los perros, con mayor frecuencia que los adultos. El control consiste en evitar la exposición a las aguas potencialmente contaminadas y reducir la contaminación mediante el control de los roedores. La doxiciclina, 200 mg por vía oral una vez a la semana durante la exposición intensa, es una profilaxis eficaz. A los perros se les pueden administrar vacunas contra moquillo-hepatitis-leptospirosis.

OTRAS ENFERMEDADES POR ESPIROQUETAS

SPIRILLUM MINOR (*Spirillum morsus muris*)

El *Spirillum minor* causa una variedad de fiebre por mordedura de rata (sodoku). Este microorganismo espiral muy pequeño (3 a 5 μ m) es rígido y se encuentra en las ratas de todo el mundo. El microorganismo se inocula en los humanos a través de la mordedura de rata, produciendo una lesión local, inflamación de los ganglios linfáticos regionales, exantema cutáneo y fiebre de tipo recidivante. La frecuencia de esta enfermedad depende del grado de contacto entre humanos y ratas. Los espirilos pueden aislarse al inocular el material procedente de los ganglios linfáticos hipertrofiados o sangre a cobayos y ratones, pero no pueden crecer en medios bacteriológicos. La enfermedad se identifica con poca frecuencia en E.U.A. y Europa. Algunos otros microorganismos espirales aerobios y gramnegativos dotados de motilidad también pueden producir fiebre por espirilos.

ESPIROQUETAS DE LA CAVIDAD BUCAL Y MUCOSAS NORMALES

En la cavidad bucal de toda persona normal se encuentran algunas espiroquetas. Algunas de ellas han recibido nombres (p. ej., *Borrelia buccalis*), pero ni su morfología ni su actividad fisiológica permiten una clasificación definitiva. En los genitales normales se puede encontrar una espiroqueta denominada *Borrelia refringens* a veces confundida con el *T. pallidum*. Estos microorganismos son saprofitos inofensivos en condiciones ordinarias. La mayor parte son anaerobios estrictos que pueden crecer en tubos con caldo de infusión de carne sellados con vaselina a los que se les han añadido algunos trozos de tejido.

ENFERMEDAD FUSOESPIROQUETAL

En ciertas circunstancias, en particular lesiones en las mucosas, deficiencia nutricional o infección contaminante (p. ej., con virus del herpes simple) del epitelio, las espiroquetas normales de la boca, junto con bacilos fusiformes anaerobios (fusobacterias), encuentran condiciones adecuadas para incrementar su número. Esto ocurre en la gingivostomatitis ulcerante (enfermedad de las trincheras), con frecuencia denominada estomatitis de Vincent. Cuando este tipo de proceso produce amigdalitis ulcerante y afección masiva del tejido, se le puede denominar angina de Vincent. También se observa en los abscesos pulmonares, donde microorganismos piógenos y especies *Bacteroides* han destruido el tejido; en la bronquiectasia, donde los trastornos anatómicos y fisiológicos interfieren con el drenaje normal;

en las úlceras de la pierna ("tropical") con infección mixta y estasis venosa; y en heridas por mordedura y situaciones similares.

En todos estos casos, el tejido necrosado suministra el ambiente anaerobio necesario para la flora fusospiroquetel. Las condiciones anaerobias, a su vez, impiden una rápida cicatrización y contribuyen a la destrucción tisular. Las especies de *Fusobacterium* coexisten con otros anaerobios. Los antibióticos inhiben con rapidez a las fusospiroquetas. La terapéutica con antibióticos puede, por tanto, controlar la gingivostomatitis o la angina. Sin embargo, los microorganismos fusospiroquetales no son patógenos primarios. El tratamiento eficaz debe dirigirse contra la causa inicial de la destrucción de los tejidos.

En general, la enfermedad fusospiroquetel no se transmite por contacto directo, puesto que toda persona aloja los microorganismos en la boca; sin embargo, ocasionalmente se observan brotes en niños y adultos jóvenes. Esto se atribuye a la transmisión de un agente viral (p. ej., virus del herpes simple) en un grupo de población susceptible o en un grupo con deficiencia nutricional o condiciones deficientes de higiene bucal "boca de trinchera".

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un hombre de 23 años de edad se presenta con un exantema maculopapular en gran parte del tronco pero no en la boca ni en la palma de las manos. Debido a que se consideró sífilis secundaria en el diagnóstico diferencial, se llevó a cabo una prueba de reaginina plasmática rápida (RPR) y resultó positiva a una dilución 1:2. Sin embargo, la prueba de absorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes (FTA-ABS) fue negativa. ¿Cuál de las siguientes enfermedades se puede descartar?
 - A. Sífilis secundaria
 - B. Rubéola atípica
 - C. Infección por coxsackievirus
 - D. Infección aguda por VIH 1
 - E. Reacción alérgica por fármacos
2. Una mujer de 20 años de edad se presenta con una úlcera de 2 cm en los labios mayores. La lesión tiene un borde elevado y es relativamente indolora. El diagnóstico diferencial de esta lesión incluye
 - A. Infección por adenovirus
 - B. Infección por papilomavirus
 - C. Infección por *Neisseria gonorrhoeae*
 - D. Cervicitis por *Chlamydia trachomatis*
 - E. Infección por *Treponema pallidum*
3. ¿Cuál de los siguientes agentes infecciosos pueden dar como resultado una prueba falsa positiva no treponémica (VDRL o RPR) para sífilis?
 - A. Virus de la varicela zoster
 - B. *Borrelia burgdorferi*
 - C. *Streptococcus pyogenes*
 - D. Virus de Epstein-Barr
 - E. Virus de hepatitis B
 - F. Todas las anteriores
4. Un residente médico de 27 años de edad fue admitido al hospital como resultado del inicio repentino de fiebre a 39 °C y cefalea. Dos semanas antes había estado de vacaciones en una región rural de Oregon, donde iba a nadar con frecuencia en un canal de irrigación bordeado

do de tierra, donde pastaban las vacas. Las pruebas de sangre realizadas poco después de la admisión indicaron anormalidad de la función renal y alta concentración de bilirrubina y otras pruebas de función hepática. Los cultivos de rutina de sangre, orina y líquido cefalorraquídeo fueron negativos. Se sospecha de leptospirosis. ¿Cuál sería la acción más probable a seguir para confirmar el diagnóstico?

- A. Probar los sueros de las fases aguda y de convalecencia por medio de la prueba rápida de reaginina plasmática (RPR)
 - B. Cultivo de orina en células de fibroblasto diploides humanas
 - C. Probar el suero mediante examen de campo oscuro para la presencia de leptospiras.
 - D. Probar el suero de la fase aguda y de convalecencia para anticuerpos antileptospirales
 - E. Cultivo de líquido cefalorraquídeo en sangre y agar de chocolate
5. Una mujer de 42 años de edad fue a acampar en las montañas de Sierra Nevada, donde durmió dos noches

en una cabaña abandonada. Después de la segunda noche encontró una garrapata en su hombro. Seis días después, se le presentó fiebre con 38 °C, que duró cuatro días; 10 días después, tuvo otro episodio similar de fiebre. En el examen de frotis de sangre coloreada con tinción de Wright se observaron espiroquetas que hacen pensar en borrelia. ¿Cuál de los enunciados siguientes acerca de la fiebre recidivante y *Borrelia hermsii* es correcto?

- A. Cada recaída se relaciona con una variante antígenicamente distinta
- B. Los frotis de sangre se deben hacer cuando el paciente es afebril
- C. *Borreliae* no pasa de forma transovarial de una generación a la siguiente en las garrapatas
- D. El reservorio principal para la borrelia es el venado
- E. *Borrelia hermsii* es resistente a la penicilina y a la tetraciclina

Respuestas: 1 = A; 2 = E; 3 = F; 4 = D; 5 = A

REFERENCIAS

- Johnson WD Jr, Golightly LM: *Borrelia* species (relapsing fever). In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Levett PN: *Leptospira* and *Leptonema*. In: *Manual of Clinical Microbiology* 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Norris SJ et al.: *Treponema* and other human host-associated spirochetes. In: *Manual of Clinical Microbiology* 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.
- Steere AC: *Borrelia burgdorferi* (Lyme disease, Lyme borreliosis). In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Tappero JW, Ashford DA, Perkins BA: *Leptospira* species (leptospirosis). In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Tramont EC: *Treponema pallidum* (syphilis). In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Wilske B, Schriefer ME: *Borrelia*. In: *Manual of Clinical Microbiology* 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.

Micoplasmas y bacterias con pared celular defectuosa

MICOPLASMAS

Existen más de 150 especies pertenecientes a la clase de bacterias sin pared celular. Se supone que al menos 15 de estas especies son de origen humano, en tanto que otras se han aislado de animales y plantas. En los humanos, cuatro especies tienen importancia primaria: el *Mycoplasma pneumoniae* causa neumonía y se ha relacionado con infecciones articulares y otras. En ocasiones, el *Mycoplasma hominis* causa fiebre puerperal y se ha encontrado junto con otras bacterias en infecciones del útero y de las trompas de Falopio. El *Ureaplasma urealyticum* causa uretritis no gonocócica en varones y se ha relacionado con enfermedad pulmonar en lactantes prematuros y de bajo peso al nacer. El *Mycoplasma genitalium* está relacionado con el *M. pneumoniae* y es causante de infecciones uretrales y otras. Otros miembros del género *Mycoplasma* son patógenos de los aparatos respiratorio y urogenital, así como de las articulaciones en animales.

No está clara la identidad de los ancestros evolutivos del micoplasma. El genoma más pequeño de los micoplasmas es un poco mayor del doble del genoma de ciertos virus grandes. Los micoplasmas son los microorganismos más pequeños capaces de vivir libremente en la naturaleza y autorreproducirse en medios de laboratorio. Muestran las siguientes características: 1) Los micoplasmas más pequeños son de 125 a 250 nm de tamaño. 2) Son pleomórficos debido a que carecen de una pared celular rígida, y en su lugar están limitados por una "membrana unitaria" de tres capas que contiene un tipo de esterol (los micoplasmas requieren la adición de suero o colesterol al medio con el fin de producir esteroides para el desarrollo). 3) Los micoplasmas son resistentes por completo a la penicilina debido a que carecen de estructuras de pared celular en las que actúa la penicilina, pero los inhiben la tetraciclina o la eritromicina. Los micoplasmas se reproducen sobre agar en medios libres de células, es típico que el centro de la colonia

esté embebido bajo la superficie. 5) Anticuerpos específicos inhiben el crecimiento de micoplasmas. 6) Los micoplasmas poseen afinidad por las membranas celulares de mamíferos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Los micoplasmas no pueden estudiarse por los métodos bacteriológicos comunes debido al pequeño tamaño de sus colonias, plasticidad y delicadeza de sus células individuales (resultado de la falta de pared celular rígida). El crecimiento en medios líquidos da lugar a muchas formas diferentes. El desarrollo en medios sólidos consiste sobre todo en masas protoplásmicas plásticas de forma indefinida que se distorsionan con facilidad. Estas estructuras varían mucho en tamaño, con un diámetro que va de 50 a 300 nm. La morfología parece diferente según el método empleado para el examen (p. ej., campo oscuro, inmunofluorescencia, película de medios sólidos o líquidos teñida con Giemsa, fijación en agar).

B. Cultivo

Muchas cepas de micoplasmas crecen en caldo de peptona con infusión de corazón y 2% de agar (pH 7.8), al cual se ha añadido casi 30% de líquido ascítico humano o suero de animal (caballo, conejo). A veces no hay turbidez después de incubación a 37 °C durante 48 a 96 h, pero la tinción de Giemsa del sedimento centrifugado muestra las estructuras pleomórficas características, y el subcultivo sobre medio sólido produce colonias diminutas.

Después de 2 a 6 días sobre medio difásico (sobre caldo y agar) y medio de agar incubado en caja de Petri sellada para evitar la evaporación, se pueden detectar con una lupa colonias aisladas que miden de 20 a 500 µm. Estas colonias son redondas, con superficie granulosa y centro oscuro típicamente enterrado en el agar. Se pueden subcultivar si se corta un pequeño cuadro de agar que contenga una o más colonias y éste se siembra en bandas sobre la placa fresca o se le deja caer en medio líquido. Los microorganismos se

pueden teñir para estudio microscópico al colocar un cuadro similar sobre una laminilla y cubrir la colonia con un cubreobjetos sobre el cual se ha vertido una solución alcohólica de azul de metileno y azul que luego se evapora (fijación del agar). Estos portaobjetos también se pueden teñir con anticuerpos específicos acoplados a fluorescencia.

C. Características del crecimiento

Los micoplasmas son peculiares en microbiología debido a 1) su tamaño muy pequeño y 2) su crecimiento sobre medios complejos pero libres de células.

Los micoplasmas pasan a través de filtros con poros de 450 nm de diámetro y, por tanto, son comparables a las clamidias o a los virus grandes. Sin embargo, los micoplasmas parásitos crecen sobre medios libres de células que contienen lipoproteínas y esterol. El requerimiento de esterol para el crecimiento y síntesis de las membranas es único. Los micoplasmas resisten la acción del acetato de talio que a veces se emplea para inhibir las bacterias.

Muchos micoplasmas utilizan glucosa como fuente de energía; los ureaplasmas requieren urea.

Algunos micoplasmas humanos producen peróxidos y hemolizan los eritrocitos. En cultivo de células e *in vivo*, los micoplasmas se desartellan principalmente en la superficie de las células. Muchas líneas de células animales y humanas establecidas en cultivo son portadoras de micoplasmas como contaminantes.

D. Variación

El pleomorfismo extremo de los micoplasmas es una de sus principales características.

Estructura antigénica

Es posible aislar de animales (p. ej., ratones, pollos, pavos) muchas especies antígenicamente distintas de micoplasmas. En los humanos se pueden identificar al menos 14 especies, que incluyen *M. hominis*, *Mycoplasma salivarium*, *Mycoplasma orale*, *Mycoplasma fermentans*, *M. pneumoniae*, *M. genitalium*, *U. urealyticum*; y otras.

Las especies se clasifican por sus características bioquímicas y serológicas. Los antígenos para la prueba de FC son glucolípidos. Los antígenos para la prueba de ELISA son proteínas. Algunas especies poseen más de un serotipo.

Patogenia

Muchos micoplasmas patógenos tienen forma filamentosos o de botella y muestran estructuras polares especializadas en sus extremos que median la adherencia a las células huésped. Estas estructuras son un grupo complejo de proteínas interactivas, adhesinas y proteínas accesorias para la adherencia. Las proteínas son abundantes en prolinea, la cual influye en el plegamiento y unión de la proteína y es importante en la adherencia a las células. Los micoplasmas se unen a las superficies de células ciliadas y no ciliadas, tal vez a través de los glucolípidos sialoglucoconjugados y sulfatados de las células mucosas. Algunos micoplasmas carecen de las distintas estructuras características de sus extremos,

pero usan proteínas adhesinas o poseen mecanismos alternos para adherirse a las células huésped. Los eventos subsiguientes en la infección son más difíciles de entender, pero pueden incluir factores como los siguientes: citotoxicidad directa a través de la generación de peróxido de hidrógeno y radicales superóxido; citólisis mediada por reacciones antígeno-anticuerpo o por quimiotaxis y acción de las células mononucleares; y competencia por nutrientes y agotamiento de éstos.

Infección por *Mycoplasma*

Los micoplasmas parecen afectar a huéspedes específicos, son transmisibles y potencialmente patógenos sólo dentro de una especie de huéspedes. En los animales, los micoplasmas parecen ser parásitos intracelulares con predilección por las células mesoteliales (pleura, peritoneo, sinovial de las articulaciones). Pueden elaborar varios productos extracelulares (p. ej., hemolisinas).

A. Infección en humanos

Los micoplasmas se han cultivado de mucosas y tejidos humanos, en particular de los aparatos genital, urinario y respiratorio. Los micoplasmas son parte de la flora normal de la boca y pueden crecer a partir de las mucosas salivales bucales normales, esputo o tejido amigdalino. El *M. salivarium*, el *M. orale* y otros micoplasmas pueden recuperarse de la cavidad bucal de muchos adultos sanos, pero es dudoso un vínculo con la enfermedad clínica. El *M. hominis* se encuentra en la bucofaringe de menos de 5% de los adultos. El *M. pneumoniae* en la bucofaringe suele asociarse con enfermedad (véase después).

Algunos micoplasmas habitan en el aparato genitourinario, particularmente en mujeres. Tanto en varones como en mujeres, la presencia de micoplasma en el aparato genital se relaciona directamente con el número de parejas sexuales. El *M. hominis* se puede cultivar de 1 a 5% de los varones asintomáticos y de 30 a 70% de las mujeres asintomáticas; las tasas aumentan a 20% y más de 90% para varones y mujeres, respectivamente, en las clínicas de enfermedades de transmisión sexual. El *U. urealyticum* se encuentra en el aparato genital de 5 a 20% de los varones y de 40 a 80% de las mujeres, sexualmente activos. Alrededor de 20% de las mujeres que acuden a clínicas de enfermedades de transmisión sexual tienen *M. genitalium* en vías genitales inferiores, y también pueden presentar otros micoplasmas en dichas vías.

B. Infección en animales

La pleuroneumonía bovina es una enfermedad contagiosa, a veces mortal, del ganado bovino, acompañada con neumonía y derrame pleural. Esta enfermedad quizá se propaga a través del aire. En los exudados inflamatorios se encuentran micoplasmas.

En el área del Mediterráneo, la agalactia de ovejas y cabras es una infección generalizada con lesiones locales en piel, ojos, articulaciones, ubres y escroto; conduce a la atrofia de las glándulas mamarias lactantes en las hembras. Al principio se encuentran micoplasmas en la sangre y después en la leche y los exudados.

En algunas aves, el micoplasma causa enfermedades respiratorias importantes desde el punto de vista económico. Los microorganismos pueden transmitirse de las gallinas al huevo y al pollo. Los cerdos, los perros, las ratas, los ratones y otras especies albergan micoplasmas que pueden producir infección sobre todo en pleura, peritoneo, articulaciones, aparato respiratorio y ojo. En los ratones, un *Mycoplasma* de forma espiral (*Spiroplasma*) puede causar cataratas.

C. Infección en plantas

La clorosis del áster, la atrofia del maíz y otras enfermedades de plantas, al parecer son causadas por micoplasmas. Se transmiten por insectos y pueden suprimirse con tetraciclina.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras consisten en exudado faríngeo, esputo, exudado inflamatorio y secreciones de los aparatos respiratorio, uretral o genital.

B. Examen microscópico

No es útil el examen directo de una muestra para detectar micoplasmas. Los cultivos se examinan como se describió antes.

C. Cultivos

Se inocula material sobre medio sólido especial y se incuba durante 3 a 10 días a 37 °C con 5% de CO₂ (bajo condiciones microaerófilas), o en caldo especial incubado en medio aerobio. A veces se requieren 1 o 2 subcultivos de medio antes de que aparezca un crecimiento adecuado para examen microscópico mediante tinción o inmunofluorescencia. Sobre el agar, las colonias pueden presentar un aspecto de "huevo frito".

D. Serología

Los humanos infectados con micoplasmas desarrollan anticuerpos que pueden demostrarse por varios métodos. A veces se ejecutan pruebas de FC con antígenos glucolípidos extraídos con cloroformo-metanol de los micoplasmas cultivados. Las pruebas HI se pueden aplicar a eritrocitos recubiertos con antígenos de micoplasmas absorbidos. También se utiliza inmunofluorescencia indirecta. La prueba que mide la inhibición del crecimiento mediante anticuerpo es muy específica. Con todas esas técnicas serológicas se logra una especificidad adecuada para las diferentes especies de *Mycoplasma* humanas, pero para conferirle significado diagnóstico se requiere el aumento del título de anticuerpos, debido a la gran incidencia de pruebas serológicas positivas en las personas sanas. El *M. pneumoniae* y el *M. genitalium* presentan reactividad serológica cruzada.

Tratamiento

Muchas cepas de micoplasmas se inhiben con varios antimicrobianos, pero la mayor parte es resistente a penicili-

nas, cefalosporinas y vancomicina. Las tetraciclinas y eritromicinas son eficaces *in vitro* e *in vivo* y en la actualidad son los fármacos de elección para combatir la neumonía micoplásmica. Algunos ureaplasmas son resistentes a la tetraciclina.

Epidemiología, prevención y control

El aislamiento del ganado infectado controla la pleuroneumonía y la agalactia, ambas muy contagiosas. No hay vacuna disponible. La neumonía por micoplasma se comporta como una enfermedad respiratoria viral transmisible (véase después).

MYCOPLASMA PNEUMONIAE Y NEUMONIAS ATÍPICAS

El *M. pneumoniae* es un agente causal importante de neumonía, sobre todo en personas de 5 a 20 años de edad.

Patogenia

El *M. pneumoniae* se transmite de una persona a otra por medio de secreciones respiratorias infectadas. La infección se inicia con la adhesión del extremo del microorganismo a un receptor en la superficie de las células epiteliales respiratorias (figura 26-1). La adhesión está mediada por una proteína del tipo adhesina específica sobre la estructura terminal diferenciada del microorganismo. Durante la infección, los microorganismos permanecen fuera de la célula.

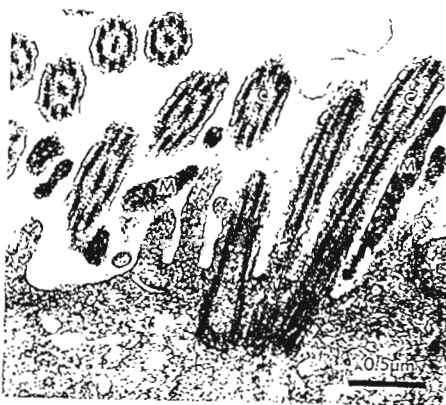


Figura 26-1. Micrografía electrónica de *Mycoplasma pneumoniae* adheridos a células epiteliales cilindricas del aparato respiratorio en una muestra de esputo procedente de un paciente con neumonía por *M. pneumoniae* demostrada mediante cultivo. El *M. pneumoniae* (M) se observa sobre el borde luminal unido entre los cilios (C). (Cortesía de AM Collier, Department of Pediatrics, University of North Carolina.)

Datos clínicos

Por lo general, la neumonía por micoplasma es una enfermedad leve. La diversidad clínica de las infecciones por *M. pneumoniae* varía desde la infección asintomática hasta la neumonitis grave, con afección ocasional neurológica y hemática (es decir, anemia hemolítica) y varias lesiones cutáneas posibles. La miringitis bulosa se presenta en casos espontáneos y en voluntarios inoculados experimentalmente.

El período de incubación varía de 1 a 3 semanas. El inicio suele ser insidioso, con laxitud, fiebre, cefalalgia, malestar faríngeo y tos. Al principio la tos es no productiva, pero en ocasiones es paroxística. Después puede haber esputo con estrías sanguinolentas y dolor torácico. Al principio de la enfermedad, el paciente sólo parece un poco enfermo, y los signos físicos de matidez pulmonar casi siempre son insignificantes en comparación con la notable consolidación observada en la radiografía. Más tarde, cuando la infiltración es máxima, la enfermedad puede ser grave. La resolución de la infiltración pulmonar y la mejoría clínica ocurren de manera lenta en 1 a 4 semanas. Aunque el curso de la enfermedad es muy variable, la muerte es poco frecuente y por lo general se atribuye a insuficiencia cardíaca. Las complicaciones son poco comunes, pero puede aparecer anemia hemolítica. Los datos patológicos más frecuentes son la neumonitis intersticial y peribronquial y la bronquiolitis necrosante. Otras enfermedades tal vez vinculadas con el *M. pneumoniae* incluyen eritema multiforme, afección del sistema nervioso central con meningitis, meningocelitis, mononeuritis y polineuritis; miocarditis; pericarditis; artritis y pancreatitis.

Las causas comunes de neumonía bacteriana adquirida en la comunidad, además de *Mycoplasma pneumoniae*, incluyen *Streptococcus pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Chlamydia pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*. Otras bacterias son causas poco comunes de neumonía y tienden a existir en entornos especializados: *Klebsiella pneumoniae* se presenta en varones alcohólicos ancianos, y la neumonía por *Staphylococcus aureus* tiende a seguir las infecciones por virus de influenza.

Pruebas de laboratorio

El diagnóstico de neumonía causada por *M. pneumoniae* en gran medida se establece mediante el reconocimiento clínico del síndrome; las pruebas de laboratorio poseen un valor secundario. La fórmula blanca puede encontrarse ligeramente elevada. La tinción de Gram del esputo muestra utilidad ya que descarta la presencia de algún otro patógeno bacteriano (p. ej. *Streptococcus pneumoniae*). El micoplasma causal se puede aislar por medio de cultivos de muestras obtenidas de faringe y del esputo; no obstante, el cultivo es una prueba muy especializada y casi nunca se realiza con el propósito de diagnosticar una infección por *M. pneumoniae*. Las hemaglutininas frías de eritrocitos humanos del grupo 0 están presentes en casi 50% de los pacientes sin tratamiento: muestran una elevación progresiva de su titulación, alcanzando un nivel máximo a la tercera o cuarta semana después del inicio de la infección. Una titulación de 1:64 o más apoya el diagnóstico de infección por *M. pneumoniae*. Existe también una elevación de los anti-

cuerpos específicos contra *M. pneumoniae* que es demostrable a través de pruebas de fijación del complemento (FC); es necesario disponer de muestras de suero obtenidas durante la fase aguda y de convalecencia, para así demostrar una cuarta elevación de los anticuerpos FC. El ELA (inmunoensayo) realizado para detectar anticuerpos contra *M. pneumoniae* es de uso limitado, así como también lo es el método de detección del RNA ribosomal de *M. pneumoniae* que utiliza DNA marcado con un isótopo radiactivo.

Tratamiento

Las tetraciclinas o eritromicinas pueden producir mejoría clínica, pero no erradicar el micoplasma.

Epidemiología, prevención y control

La infección por *M. pneumoniae* es endémica en todo el mundo. En poblaciones de niños y adultos jóvenes, donde prevalece el contacto estrecho, y en familias, la tasa de infección puede ser muy alta (50 a 90%), pero la incidencia de neumonitis es variable (3 a 30%). Por cada caso de neumonitis franca existen varios casos de enfermedad respiratoria más leve. Al parecer, el *M. pneumoniae* se transmite principalmente por contacto a través de secreciones respiratorias. Son poco frecuentes los segundos ataques. Se ha vinculado la presencia de anticuerpos al *M. pneumoniae* con resistencia a la infección, pero es posible que no sean la causa de ella. También puede observarse reacción inmunitaria mediada por células. A veces el proceso neumónico se atribuye en parte a una respuesta inmunitaria y no a la sola infección por micoplasma.

MYCOPLASMA HOMINIS

El *M. hominis* se ha relacionado con varias enfermedades, pero sólo es causa demostrable en unas pocas. La evidencia de una relación causal con la enfermedad proviene del cultivo y del estudio serológico. El *M. hominis* se puede cultivar de la parte superior del aparato urinario en casi 10% de los pacientes con pielonefritis. El *M. hominis* se vincula fuertemente con la infección de las trompas uterinas (salpingitis) y con abscesos tuboováricos; el microorganismo puede aislarse de las trompas uterinas de casi 10% de las pacientes con salpingitis, pero no de las mujeres sin signos de enfermedad. Las mujeres con salpingitis preesentan con mayor frecuencia anticuerpos contra el *M. hominis* en comparación con mujeres no enfermas. El *M. hominis* puede aislarse de la sangre de casi 10% de las mujeres con fiebre posaborto o posparto y en ocasiones del cultivo del líquido articular de pacientes con artritis.

UREAPLASMA UREALYTICUM

El *U. urealyticum*, al igual que el *M. hominis*, puede relacionarse con varias enfermedades, pero sólo es causa de

mostrable en unas pocas. Este microorganismo requiere 10% de urea para crecer y tal vez causa uretritis no gonocócica en algunos varones, pero la mayor parte de los casos de esta afección se debe a *Chlamydia trachomatis* (capítulo 28). El *U. urealyticum* es común en el aparato genital femenino, donde su relación con la enfermedad es débil. El *U. urealyticum* se ha asociado con enfermedad pulmonar en los lactantes prematuros con bajo peso al nacer, quienes contraen el microorganismo durante el parto. La evidencia de que el *U. urealyticum* se vincula con esterilidad involuntaria es, en el mejor de los casos, marginal.

MYCOPLASMA GENITALIUM

El *M. genitalium* originalmente se aisló de cultivos uretrales de dos varones con uretritis no gonocócica, pero su cultivo es difícil y las observaciones subsecuentes se basaron en datos obtenidos mediante PCR, sondas moleculares y pruebas serológicas. Los datos sugieren que el *M. genitalium* se relaciona con algunos casos de uretritis no gonocócica aguda y también crónica.

BACTERIAS CON PARED CELULAR DEFECTUOSA

Las variantes de fase L (formas L) son formas microbianas sin pared que pueden reproducirse en serie como células no rígidas y producen colonias sobre medio sólido. Algunas variantes de fase L son estables; otras son inestables y reversiones a las formas bacterianas progenitoras. Las que carecen de pared no se vinculan genéticamente con los micoplasmas. Pueden ser resultado de mutación espontánea o de los efectos de sustancias químicas. El tratamiento de las eubacterias con inhibidores de la pared celular o con lisozima produce a veces formas microbianas sin pared celular. Los protoplastos son estas formas usualmente derivadas de microorganismos grampositivos; tienen fragilidad osmótica y una superficie externa libre de los constituyentes de la pared celular. Los esferoplastos son microorganismos con pared defectuosa generalmente derivados de bacterias gramnegativas; retienen algún material de la membrana externa.

No hay una relación genética entre el micoplasma y las formas bacterianas de pared celular defectuosa o los progenitores bacterianos de éstas. Las características de las formas de pared celular defectuosa son similares a las micoplásmicas, pero por definición los micoplasmas no reversiones a las formas bacterianas progenitoras ni se originan de ellas. Las formas celulares de pared defectuosa continúan la síntesis de algunos antígenos normalmente localizados en la pared celular de la bacteria progenitora (p. ej., formas estreptocócicas L producen proteína M y polisacárido capsular). La reversión de las formas L a la forma bac-

teriana progenitora aumenta con el crecimiento en presencia de 15 a 30% de gelatina o 2.5% de agar. La reversión se impide mediante inhibidores de la síntesis de las proteínas.

Es dudoso si las formas microbianas con pared celular defectuosa causan reacciones en los tejidos que produzcan enfermedad. Pueden ser importantes para la persistencia de microorganismos en los tejidos y en la recidiva de la infección después del tratamiento antimicrobiano, como en algunos casos poco comunes de endocarditis.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Los micoplasmas tienen las siguientes características, excepto:
 - Poseción de DNA y RNA
 - Capacidad para el desarrollo libre de células
 - Susceptibilidad a la penicilina G
 - Parasitismo extracelular *in vivo*
- Un hombre de 19 años de edad padece tos y fiebre. En una radiografía del tórax se observa consolidación del lóbulo inferior izquierdo. Se realiza un diagnóstico de neumonía. ¿Cuál de las siguientes bacterias es una causa frecuente de neumonía adquirida en la comunidad?
 - Legionella pneumophila*
 - Chlamydia pneumoniae*
 - Streptococcus pneumoniae*
 - Mycoplasma pneumoniae*
 - Todas las anteriores
- Un estudiante de medicina de 25 años de edad tiene contacto con un paciente que padece neumonía con fiebre y tos. Cuatro días después, el estudiante presenta síntomas de fiebre y tos, y en la radiografía de tórax se observa consolidación del lóbulo inferior izquierdo. Los cultivos rutinarios de esputo bacteriano son negativos. Se considera neumonía causada por *Mycoplasma pneumoniae*. ¿Cuál es una manera de confirmar este diagnóstico?
 - Amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa del DNA de *Mycoplasma pneumoniae* en el esputo
 - Cultivo de esputo para determinar *Mycoplasma pneumoniae*
 - Tinción de Gram de frotis de esputo
 - Cultivo de aspirado pulmonar para *Mycoplasma pneumoniae*
 - Prueba de fijación de complemento de suero de etapa aguda y de convalecencia
- Una mujer de 18 años de edad sexualmente activa manifiesta dolor y fiebre en el cuadrante inferior izquierdo. En el examen pélvico hay hipersensibilidad en el anexo izquierdo, y se palpa una masa que hace pensar en un absceso de la trompa uterina. A la paciente se le diagnostica una enfermedad inflamatoria pélvica. ¿A cuál de las siguientes bacterias se le considera una causa común de enfermedad inflamatoria pélvica?
 - Bacillus cereus*
 - Haemophilus influenzae*
 - Neisseria subflava*
 - Mycoplasma pneumoniae*
 - Chlamydia trachomatis*
- Una mujer de 25 años de edad es enviada a la clínica de enfermedades de transmisión sexual debido al contacto con un compañero con gonorrea. La mujer ha tenido 15 parejas sexuales varones desde que comenzó

a tener actividad sexual. La probabilidad de que ella también tenga infección genital por *Mycoplasma hominis* es:

- A. 1%
- B. 5%
- C. 15%
- D. 40%
- A. 90%

Respuestas: 1 = C; 2 = E; 3 = E; 4 = E; 5 = E

REFERENCIAS

- Baseman JB, Tully JG: Mycoplasmas: Sophisticated, reemerging, and burdened by their notoriety. *Emerg Infect Dis* 1997;3:21. [http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol3no1/baseman.htm]
- Baum SG: *Mycoplasma pneumoniae* and atypical pneumoniae. In: Mandell, Douglas, and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Taylor-Robinson D: *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, and *Mycoplasma genitalium*. In: Mandell, Douglas, and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Waites KB, Rikihisa Y, Taylor-Robinson D: *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. In: *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.

Rickettsias y ehrlichias

Los patógenos humanos de la familia *Rickettsiaceae* son bacterias pequeñas del género *rickettsia*, *orientia*, *coxiella* y *ehrlichia*; son parásitos intracelulares obligados y, con excepción de la fiebre Q, se transmiten a los humanos a través de artrópodos. Muchas rickettsias se transmiten transovariamente en los artrópodos, los cuales sirven como vector y reservorio. Por lo general, las enfermedades rickettsiales (excepto fiebre Q y ehrlichiosis) típicamente se presentan con fiebre, exantemas y vasculitis. Se agrupan con base en sus características clínicas, aspectos epidemiológicos y características inmunitarias (cuadro 27-1).

Propiedades de las *Rickettsias*

Las rickettsias son coccobacilos pleomórficos, es decir que se presentan con aspecto ya sea de bastones pequeños ($0.3 \times 1-2 \mu\text{m}$) o de cocos ($0.3 \mu\text{m}$ de diámetro). No se tiñen bien con la coloración de Gram, pero son evidentes bajo el microscopio de luz si se tiñen con Giemsa, Jiménez, naranja acridina u otras coloraciones.

Las rickettsias crecen rápidamente en las bolsas yema de huevos embrionados. Las preparaciones puras de rickettsias utilizadas para pruebas de laboratorio se pueden obtener mediante centrifugación diferencial de las suspensiones de bolsas yema. Muchas cepas de rickettsias también crecen en cultivo celular. En éste, el tiempo de generación es de 8 a 10 h a 34°C . Por motivos de bioseguridad, el aislamiento de *Rickettsias* se debe llevar a cabo sólo en laboratorios de referencia.

Las rickettsias tienen estructuras gramnegativas de la pared celular que incluyen a los ácidos murámico y diaminopimélico, ambos contienen peptidoglucanos. Los grupos causales de tífus y fiebre manchada contienen lipopolisacáridos. Las proteínas de la pared celular incluyen una proteína de la capa S con peso molecular (PM) de 135 000 (rOmpB), una lipoproteína de 17 000 PM y, en el grupo de fiebre manchada, una proteína expuesta de superficie con un número variable de repeticiones en tándem.

Las rickettsias crecen en diferentes partes de la célula. Las del grupo del tifo se encuentran generalmente en el citoplasma; las del grupo de la fiebre manchada, en el núcleo. Las coxiellas sólo crecen en las vacuolas citoplásmicas.

El crecimiento de las rickettsias se incrementa en presencia de sulfonamidas, y en presencia de estos fármacos la

enfermedad aumenta su gravedad. Las tetraciclinas y el cloranfenicol inhiben su crecimiento y pueden ser terapéuticamente eficaces.

En general, las rickettsias sobreviven fuera del vector o del huésped únicamente durante periodos cortos. Las rickettsias se destruyen rápidamente en presencia de calor, desecación y químicos bactericidas. Las heces secas de liendres infectadas pueden contener *R. prowazekii* infecciosa durante varios meses a temperatura ambiente. El microorganismo causante de la fiebre Q es la rickettsia, la cual es más resistente a la desecación. Este microorganismo a veces sobrevive a la pasteurización a 60°C durante 30 min y puede sobrevivir durante meses en heces secas o leche. Esto tal vez se deba a la formación de estructuras parecidas a endosporas por *Coxiella burnetii*.

Antígenos rickettsiales y serología

Para detectar las rickettsias en garrapatas y cortes de tejido se puede emplear la prueba directa con anticuerpos inmunofluorescentes. La prueba es útil para detectar *R. rickettsii* en biopsias de piel, con objeto de establecer el diagnóstico de fiebre manchada de las Montañas Rocosas; sin embargo, sólo se practica en pocos laboratorios de referencia.

Para cualquier enfermedad por rickettsia, la evidencia serológica de la infección sólo aparece después de la segunda semana de la enfermedad. Así, las pruebas serológicas sólo son útiles para confirmar el diagnóstico, el cual se basa en datos clínicos (p. ej., fiebre, cefalea, exantema) e información epidemiológica (como picadura de garrapata). La terapéutica para enfermedades potencialmente graves (como la fiebre manchada de las Montañas Rocosas y el tifo) debe iniciarse antes que haya seroconversión.

Se han empleado varias pruebas serológicas para el diagnóstico de las enfermedades por rickettsias. La mayor parte de estas pruebas sólo se practican en laboratorios de referencia. Los antígenos utilizados en la **prueba de fijación del complemento (FC)** para diagnosticar fiebre Q, así como en la **inmunofluorescencia indirecta**, aglutinación en látex e inmunoensayo enzimático para diagnosticar el mal de montaña o fiebre manchada de las Montañas Rocosas ya se encuentran disponibles comercialmente. Los reactivos para otras pruebas sólo se preparan en laboratorios de referencia o de salud pública. La técnica indirecta de anticuerpos fluo-

Cuadro 27-1. Enfermedades por rickettsias y ehrlichias

Grupo	Microorganismo	Enfermedad	Distribución geográfica	Vector	Manífero reservorio	Características clínicas	Pruebas diagnósticas ¹
Grupo de la fiebre tifo	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Tifo epidémico (tifo transmitido por piojos), enfermedad de Brill-Zinsser	Mundial: Sudamérica, África, Asia, ¿Norteamérica?	Piojo	Humanos	Fiebre, escalofríos, mialgia, cefalea, exantema (sin costras); enfermedad grave en pacientes no tratados	Serología
	<i>Rickettsia typhi</i>	Tifo murino, tifo endémico, tifo transmitido por pulgas	Mundial (focos pequeños)	Pulga	Roedores	Fiebre, cefalea, mialgia, exantema (sin costras), enfermedad más leve que el tifo epidémico	Serología
	<i>Orientia tsutsugamushi</i>	Tifo de los matorrales	Asia, Norte de Australia, Pacífico sur	Ácaro	Roedores	Fiebre, cefalea, exantema (50% presentan costras), linfocitos atípicos	Serología
Grupo de la fiebre manchada ²	<i>Rickettsia rickettsii</i>	Fiebre manchada de las Montañas Rocosas	Hemisferio Occidental (EUA, Sudamérica)	Garra ³	Roedores, perros	Fiebre, cefalea, exantema (sin costras), muchas manifestaciones sistémicas	Directa de FA contra rickettsias en tejidos; serología
	<i>Rickettsia akari</i>	Rickettsiosis pustulosa	EUA, Corea, Rusia, Sudáfrica	Ácaro ³	Ratones	Enfermedad leve, fiebre, cefalea, exantema vesicular (costra)	Serología
	<i>Rickettsia australis</i>	Tifo de Queensland por garra	Australia	Garra ³	Ratones, marsupiales	Fiebre, exantema sobre tronco y extremidades (costra)	Serología
	<i>Rickettsia conorii</i>	Fiebre botonosa, fiebre manchada del Mediterráneo, fiebre manchada de Israel, fiebre de Sudáfrica por garra	Países mediterráneos, África, Medio Oriente, India	Garra ³	Roedores, perros	Fiebre, cefalea, exantema "mancha negra" (costra)	Directa de FA contra rickettsias en tejidos, no es sensible; serología
	<i>Rickettsia sibirica</i>	Tifo de Siberia por garra	Siberia, Mongolia	Garra ³	Roedores	Fiebre, exantema (costra)	Serología
Fiebre Q	<i>Coxiella burnetii</i>	Tifo de la India por garra (tifo del norte de Asia por garra)	Mundial	Ninguno (transmisión propagada por el aire)	Ovejas, ganado vacuno, cabras, otros	Cefalea, fiebre, fatiga, neumonía (sin exantema); puede presentar complicaciones graves	FC positiva a antígenos de fases I y II
	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	Ehrlichiosis del monócito humano	Región central, sureste y oeste de EUA	Garra ³	Ciervos	Fiebre, cefalea, leucocitos atípicos	Inclusiones en monocitos circulantes; FA indirecta para anticuerpos
Ehrlichias	<i>Neorickettsia sennetsu</i>	Ehrlichiosis del monócito humano	Japón, Malasia	Peces infectados con trematodos (?)	Desconocido	Fiebre, cefalea, leucocitos atípicos	Inclusiones en granulocitos; FA indirecta para anticuerpos
	<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Ehrlichiosis del granulocito humano	Parte alta del noreste y costa oeste de EUA y Europa	Garra ³	Ratones, otros mamíferos	Fiebre, cefalea, mialgia	Inclusiones en granulocitos; FA indirecta para anticuerpos
	<i>Ehrlichia ewingii</i>	Ehrlichiosis del granulocito humano	Medio oeste de EUA	Garra ³	Perros	Fiebre, cefalea, mialgia	Inclusiones en granulocitos; FA indirecta para anticuerpos

¹ FA = prueba de anticuerpos fluorescentes; FC = prueba de fijación del complemento.² Otras especies *Rickettsia* del grupo de fiebre manchada que infecta humanos incluyen *R. africae*, *R. japonica*, *R. honei* y *R. slovaca*.³ También sirve como artrópodo reservorio al conservar las rickettsias por transmisión transovárica.

rescentes quizá sea la más utilizada, debido a la disponibilidad de los reactivos y a la facilidad con la cual se puede realizar. La prueba es relativamente sensible, requiere poco antígeno y se puede emplear para detectar IgM e IgG. Se someten a la prueba rickettsias parcialmente purificadas provenientes del material de un saco vitelino infectado con diluciones del suero del paciente. El anticuerpo reactivo se detecta con globulina antihumana marcada con fluoresceína. Los resultados indican la presencia de anticuerpos parcialmente específicos de especie, pero se han observado algunas reacciones cruzadas.

Patología

Las rickettsias, excepto *C. Burnetii*, se multiplican en las células endoteliales de los vasos sanguíneos de pequeño calibre y producen vasculitis. Las células se inflaman y necrosan; la trombosis conduce a rotura y necrosis de los vasos. Las lesiones vasculares son notables en la piel, pero en muchos órganos hay vasculitis y al parecer son la base de los trastornos hemostáticos. Puede aparecer coagulación intravascular diseminada (CID) y oclusión de vasos. En el cerebro se observan agregaciones de linfocitos, leucocitos polimorfonucleares y macrófagos relacionados con los vasos sanguíneos de la materia gris; se les denomina nódulos del tifo. El corazón muestra lesiones similares en los vasos sanguíneos de pequeño calibre. Otros órganos también pueden afectarse.

Inmunidad

En un cultivo celular de macrófagos, las rickettsias se fagocitan y replican dentro de la célula incluso en presencia de anticuerpos. La adición de linfocitos procedentes de animales inmunes deprime esta multiplicación *in vitro*. La infección en los humanos es seguida de inmunidad parcial a la reinfección por fuentes externas, pero hay recaídas (véase después, la enfermedad Brill-Zinsser).

Datos clínicos

Excepto para la fiebre Q, en la cual no hay lesión cutánea, las infecciones por rickettsia se caracterizan por fiebre, cefalalgia, malestar, postración, exantema cutáneo y crecimiento del bazo e hígado.

A. Grupo del tifo

1. **Tifo epidémico:** en el tifo epidémico son graves la infección sistémica y la postración, y la fiebre dura casi dos semanas. La enfermedad es más grave y con frecuencia mortal en pacientes mayores de 40 años de edad. Durante las epidemias, la proporción caso-muerte es de 6 a 30%.
2. **Tifo endémico:** el cuadro clínico del tifo endémico presenta muchas características en común con el tifo epidémico, pero la enfermedad es más leve y raras veces mortal, excepto en ancianos.
3. **Tifo de los matorrales:** clínicamente, esta enfermedad se parece al tifo epidémico. La costra es característica:

es una úlcera en sacabocado cubierta con una costra ennegrecida que indica la localización de la picadura del ácaro. Son comunes la linfadenopatía generalizada y la linfocitosis. Las afecciones cardíaca y cerebral pueden ser graves.

B. Grupo de la fiebre manchada

El grupo de la fiebre manchada clínicamente se parece al tifo; sin embargo, a diferencia de otras enfermedades por rickettsias, el exantema del grupo de la fiebre manchada en general aparece primero sobre las extremidades, se desplaza en dirección centripeta y afecta palmas y plantas. Algunas, como la fiebre manchada brasileña, pueden producir infecciones graves; otras, como la fiebre del Mediterráneo, son leves. La tasa caso-mortalidad varía mucho. En la fiebre manchada de las Montañas Rocosas no tratada, por lo general es mucho mayor en personas ancianas (más de 50%) que en adultos jóvenes o niños.

La rickettsiosis pustulosa es una enfermedad leve con una erupción parecida a la varicela. Casi una semana antes del inicio de la fiebre aparece una pápula roja y firme en el sitio de la picadura del ácaro, y luego se desarrolla una vesícula asentada profundamente que forma posteriormente una costra negra (véase más adelante).

C. Fiebre Q

Esta enfermedad se asemeja a la influenza, a la neumonía no bacteriana, a la hepatitis o a la encefalopatía más que al tifo. Hay aumento en el título de los anticuerpos específicos a *Coxiella burnetii*, fase 2. La transmisión se produce por inhalación de polvo contaminado con rickettsias provenientes de placenta, heces, orina o leche secas, o de aerosoles en rastros.

En ocasiones se desarrolla endocarditis infecciosa en la fiebre Q crónica. Los hemocultivos para bacterias son negativos y hay un aumento en el título de anticuerpos a *C. burnetii*, fase 1. Prácticamente todos los pacientes presentan anomalías valvulares preexistentes. El tratamiento continuo con tetraciclina durante muchos meses —en ocasiones con reemplazo valvular— puede prolongar la supervivencia.

Datos de laboratorio

Técnicamente, el aislamiento de rickettsias es muy difícil y por tanto sólo de utilidad limitada en el diagnóstico. La sangre total (o sangre coagulada emulsificada) se inocula a cobayos, ratones o huevos. Las rickettsias se obtienen con mayor frecuencia de la sangre extraída poco después de iniciada la enfermedad.

Si los cobayos no muestran la enfermedad (fiebre, inflamación del escroto, necrosis hemorrágica, muerte) se recolecta suero para pruebas de anticuerpos y para así determinar si el animal ha padecido una infección inaparente.

Algunas rickettsias pueden infectar a los ratones, y entonces se les puede observar en los frotis del exudado peritoneal. En la fiebre manchada de las Montañas Rocosas, las biopsias de piel tomadas de pacientes entre los días 4 y 8 de la enfermedad pueden revelar rickettsias mediante tinción inmunofluorescente.

Las pruebas serológicas más empleadas son inmunofluorescencia indirecta y FC (véase antes). En el curso de la enfermedad debe demostrarse un aumento de los anticuerpos. En la fiebre manchada de las Montañas Rocosas es posible que la respuesta al anticuerpo no se presente hasta después de la segunda semana de enfermedad.

La PCR puede emplearse para el diagnóstico de la fiebre manchada de las Montañas Rocosas, otras enfermedades del grupo de las fiebres manchadas, tifo murino, tifo de los matorrales y fiebre Q. Para la fiebre manchada de las Montañas Rocosas, la sensibilidad del método es de casi 70%, comparable a la de biopsia de piel con inmunocitología.

Tratamiento

Las tetraciclinas y el cloranfenicol son eficaces si el tratamiento se inicia al principio de la enfermedad. La tetraciclina o el cloranfenicol se administran diariamente por vía oral y se continúan 3 a 4 días después de la defervescencia. En pacientes gravemente enfermos, la dosis inicial puede administrarse por vía intravenosa.

Las sulfonamidas agravan la enfermedad y están contraindicadas. Algunas fluoroquinolonas (p. ej., ciprofloxacina) son eficaces en las fiebres manchadas.

Los antibióticos no eliminan del cuerpo las rickettsias, pero suprimen su crecimiento. La recuperación depende en parte de los mecanismos inmunitarios del paciente.

Epidemiología

Varios artrópodos, en especial garrapatas y ácaros, albergan microorganismos similares a Rickettsias en las células que revisten su conducto alimentario. Muchos de estos microorganismos no son evidentemente patógenos para humanos.

El ciclo de vida de las diferentes rickettsias varía. La *Rickettsia prowazekii* presenta un ciclo de vida limitado a los humanos y al piojo del hombre (*Pediculus humanus corporis* y *Pediculus humanus capitis*). El piojo adquiere las rickettsias cuando pica a los seres humanos infectados, y las transmite al depositar sus excreciones sobre la superficie de la piel de otra persona. Siempre que un piojo pica, al mismo tiempo defeca. El rascado del área del piquete permite a las rickettsias de las heces penetrar la piel. Como resultado de la infección, el piojo muere, pero los microorganismos permanecen viables por algún tiempo en las heces secas del piojo. Las rickettsias no se transmiten de una generación de piojos a la siguiente. El tifo epidémico se ha controlado al despiojar con insecticidas a grandes masas de población.

La enfermedad de Brill-Zinsser es la recrudescencia de una antigua infección tífica. Las rickettsias pueden persistir durante muchos años en los ganglios linfáticos de una persona sin manifestar síntoma alguno. Las rickettsias aisladas de estos casos se comportan como la *R. prowazekii* típica; esto sugiere que los propios humanos son el reservorio de las rickettsias del tifo epidémico. El tifo epidémico se ha relacionado con la guerra y la higiene personal deficiente, las cuales incrementan las oportunidades para el

desarrollo de piojos en humanos. Si esto ocurre durante la recrudescencia de un tifo antiguo, se puede declarar una epidemia. La enfermedad de Brill-Zinsser aparece en poblaciones locales de regiones donde predomina el tifo y también en personas que migran de dichas áreas a sitios donde no existe tifo. Las características serológicas distinguen con facilidad a la enfermedad de Brill del tifo epidémico primario. Desde el principio de la infección primaria se detectan anticuerpos IgG en lugar de IgM. Alcanzan su máximo alrededor del décimo día de la enfermedad. La reacción de Weil-Felix habitualmente es negativa. Esta respuesta temprana de los anticuerpos IgG y el curso benigno de la enfermedad sugieren que hay inmunidad parcial desde la infección primaria.

En EUA, la *R. prowazekii* tiene como reservorio fuera del humano a la ardilla voladora sureña, *Glaucomys volans*. En regiones donde existe este animal (del sur de Maine a Florida, hasta el centro de EUA), se han observado infecciones en humanos después de la mordedura por los ectoparásitos de este roedor.

La rata es el reservorio de la *Rickettsia typhi*; en ese animal la infección es inaparente y prolongada. Las pulgas de la rata transmiten las rickettsias de una rata a otra y a veces las ratas a los humanos, quienes desarrollan tifo epidémico. Las pulgas del gato pueden ser vectores. En el tifo endémico, la pulga no puede transmitir las rickettsias transovariamente.

La orienta (*Rickettsia tsutsugamushi*) tiene su verdadero reservorio en los ácaros que infestan a los roedores. Las rickettsias pueden persistir en las ratas durante más de un año después de la infección. Los ácaros transmiten la infección transovariamente. En ocasiones, los ácaros o las pulgas infectadas de la rata pican a los humanos y producen tifo de los matorrales. Las rickettsias persisten en un ciclo ácaro-rata-ácaro en los matorrales o en la vegetación secundaria del bosque que ha sustituido al bosque original en las regiones de cultivo parcial. Estas regiones pueden estar infestadas por ratas y ácaros trombicúlidos.

La *R. rickettsii* puede encontrarse en garrapatas sanas del bosque (*Dermacentor andersoni*) y se transmite transovariamente. En el oeste de EUA, vertebrados como roedores, venados y humanos ocasionalmente sufren picaduras por garrapatas infectadas. Para ser infectante, la garrapata portadora de rickettsias debe llenarse de sangre, porque esto aumenta el número de rickettsias en dicha garrapata. Por tanto, hay un retardo de 45 a 90 min entre el momento que la garrapata se adhiere y el momento en que se convierte en infectante. En el este de EUA, la fiebre manchada de las Montañas Rocosas se transmite por la garrapata del perro *Dermacentor variabilis*. Los perros alojan esta garrapata y pueden servir como reservorio de la infección. Otro reservorio son los roedores pequeños. En EUA la mayor parte de los casos de fiebre manchada de las Montañas Rocosas se presenta actualmente en las regiones oriental y suboriental.

Los ácaros succionadores de sangre de las especies *Allodermomyssus sanguineus* son vectores de las *R. akari*. Estos ácaros pueden encontrarse en ratones (*Mus musculus*) atrapados en las casas de apartamentos de EUA, donde se ha observado rickettsiosis pustulosa. En los ácaros tiene lugar la transmisión transovárica de las rickettsias. Por tanto,

el ácaro puede actuar como verdadero reservorio y también como un vector. La *R. akari* también se ha aislado en Corea.

La *C. burnetii* se encuentra en las garrapatas, las cuales transmiten el agente a ovejas, cabras y ganado bovino. Los trabajadores de rastros y de plantas que procesan lana y cuero de ganado bovino pueden contraer la enfermedad al manejar los tejidos de animales infectados. En ocasiones la fuente es una gata parturienta. La *C. burnetii* se transmite por vía respiratoria más que a través de la piel. Las vacas pueden presentar infección crónica en las ubres. En estos casos, las rickettsias se excretan en la leche, y en raros casos cuando ésta no se pasteuriza pueden transmitirse a humanos.

Las ovejas infectadas pueden excretar *C. burnetii* en las heces y la orina y contaminar fuertemente su piel y lana. La placenta de vacas, ovejas, cabras y gatas infectadas contienen rickettsias y durante el parto se generan aerosoles infectantes. El suelo puede estar muy contaminado por alguna de las fuentes mencionadas, y la inhalación de este polvo infectado conduce a infección en humanos y ganado. Se ha propuesto que las endosporas formadas por *C. burnetii* contribuyen a su persistencia y diseminación. En la actualidad, la infección por *Coxiella* está muy propagada entre ovejas y bovinos en EUA. La *Coxiella* puede causar endocarditis (con aumento en los títulos de anticuerpos a *C. burnetii*, de fase I) además de neumonitis y hepatitis.

Distribución geográfica

A. Tifo epidémico

Potencialmente puede presentarse en todo el mundo; ha desaparecido en E.U.A., Gran Bretaña y Escandinavia. Aún se le encuentra en los Balcanes, Asia, África, México y los Andes. En vista de su larga duración como infección latente en humanos (enfermedad de Brill-Zinsser), puede propagarse con rapidez bajo condiciones ambientales propicias, como ocurrió en Europa durante la Segunda Guerra Mundial, debido al deterioro de la higiene en la comunidad.

B. Tifo murino o endémico

Se observa en todo el mundo, sobre todo en las regiones infestadas por ratas. Puede aparecer en las mismas regiones del tifo epidémico y del tifo de los matorrales; a veces se confunde con éstos.

C. Tifo de los matorrales

Se observa en el Lejano Oriente, sobre todo en Myanmar (Birmania), India, Sri Lanka, Nueva Guinea, Japón y Taiwan. La etapa larvaria (nigua) de varios ácaros trombiculídeos sirve como reservorio mediante transmisión transovárica, y como vector para los humanos y roedores infectantes.

D. Grupo de la fiebre manchada

Estas infecciones se presentan alrededor del mundo y como regla muestran algunas diferencias epidemiológicas e inmunitarias en regiones diferentes. Común al grupo es la transmisión por una garrapata de la familia ixodidae. Las enfermedades reunidas en este grupo incluyen a la fiebre manchada de las Montañas Rocosas y las fiebres manchadas colombiana, brasileña y mexicana; fiebre mediterránea (botonosa), de la garrapata de Sudáfrica, y la de Kenia; el

tifo por garrapata del norte de Queensland; y la rickettsiosis originada por la garrapata del norte de Asia.

E. Rickettsiosis pustulosa

En el norte de EUA se ha observado esta enfermedad en los habitantes de casas de apartamentos. También existe en Rusia, África y Corea.

F. Fiebre Q

La enfermedad se conoce en todo el mundo y se presenta principalmente en personas que manipulan cabras, ovejas, vacas o gatas parturientas. Ha llamado la atención debido a brotes en centros médicos y veterinarios donde un gran número de personas se expone a los animales que diseminan *Coxiella*.

Incidencia según las estaciones del año

El tifo epidémico es más común en climas fríos, alcanza su máximo en invierno y disminuye en la primavera. Tal vez es un reflejo del hacinamiento, falta de combustible y normas deficientes de higiene personal, que favorecen la infestación por piojos.

Las infecciones por rickettsias que deben transmitirse al huésped humano por algún vector alcanzan su incidencia máxima cuando el vector es más prevalente: meses de verano y otoño.

Control

El control se basa en romper la cadena de la infección, tratando a los pacientes con antibióticos e inmunización cuando sea posible. Los pacientes con enfermedad por rickettsias y libres de ectoparásitos no son contagiosos y no transmiten la infección.

A. Prevención de la transmisión mediante rotura de la cadena de infección

1. Tifo epidémico: eliminación del vector con insecticidas.
2. Tifo murino: edificios a prueba de ratas y empleo de venenos para rata.
3. Tifo de los matorrales: limpiar los campos de la vegetación secundaria, en la cual viven ratas y ácaros.
4. Fiebre manchada: para todas las fiebres manchadas se pueden utilizar medidas similares: limpieza de tierras infestadas; profilaxis personal con el uso de ropas protectoras, como botas altas, calcetines sobre los pantalones, repelentes para garrapata y remoción frecuente de las garrapatas adheridas.
5. Rickettsiosis pustulosa: eliminación de roedores y sus parásitos de los lugares habitados por el hombre.

B. Prevención de la transmisión de la fiebre Q mediante pasteurización adecuada de la leche

En la actualidad, las condiciones recomendadas de "alta temperatura, tiempo breve" para la pasteurización a 71.5 °C

durante 15 seg. son adecuadas para destruir las coxielas viables.

C. Prevención por vacunación

Se ha intentado la inmunización activa con antígenos tratados con formol preparados a partir del saco vitelino de embriones de pollo infectados o de cultivo de células. Estas vacunas se han preparado para el tifo epidémico (*R. prowazekii*), fiebre manchada de las Montañas Rocosas (*R. rickettsii*) y fiebre Q (*C. burnetii*). La vacuna para coxiella (fase 1, formalinizada) ha sido útil para los trabajadores de mataderos expuestos ocupacionalmente en Australia. Sin embargo, las vacunas producidas comercialmente no se encuentran disponibles en E.U.A. Se estudia el crecimiento en cultivo de células de suspensiones inactivadas de rickettsias. Una vacuna viva (cepa E) para tifo epidémico es eficaz y se emplea experimentalmente, pero produce una enfermedad autolimitada.

D. Quimioprofilaxis

En las regiones endémicas se puede utilizar cloranfenicol como agente quimioproláctico contra el tifo de los mataderos. Las dosis orales a intervalos de una semana controlan la infección, de modo que no aparece enfermedad incluso con rickettsias en sangre. El antibiótico debe continuarse durante un mes después del inicio de la infección para mantener a la persona sana. Las tetraciclinas parecen ser igualmente eficaces.

EHRlichiosis

Las bacterias ehrlichiae que causan enfermedad en los humanos han sido clasificadas en un número limitado de especies, con base, en gran parte, en la secuencia de análisis de genes de rRNA. Los patógenos son como sigue: *Ehrlichia chaffeensis*, que causa erliquiosis monocítica humana; *Ehrlichia ewingii*, que causa erliquiosis granulocítica humana; *Anaplasma phagocytophilum* (antes *Ehrlichia phagocytophila*), que causa ehrlichiosis granulocítica humana, y *Neorickettsia sennetsu* (antes *Ehrlichia sennetsu*), que causa ehrlichiosis monocítica humana. El mismo género contiene otras especies que infectan a los animales pero al parecer no a los humanos. Los patógenos humanos del grupo tienen reservorios animales y también pueden causar enfermedad en los animales.

Los organismos del grupo ehrlichia son bacterias intracelulares estrictas que se agrupan taxonómicamente con las rickettsias. Tienen como vectores a las garrapatas, aunque *N. sennetsu* podría ser transmitida por ingestión de pescado infectado por tremátodos. (Cuadro 27-1).

Propiedades de las Ehrlichias

Las ehrlichias son bacterias pequeñas (0.5 µm) gramnegativas. Infectan leucocitos circulantes, donde se multiplican dentro de las vacuolas fagocíticas, formando cúmulos con aspecto tipo inclusión. Tales cúmulos de ehrlichias se denominan en conjunto **mórula**, la cual proviene de la pala-

bra latina utilizada para referirse a la mora. Las ehrlichias y las clamydias (capítulo 28) se parecen en cuanto a que se localizan en vacuolas intracelulares; no obstante, las *Ehrlichias* se parecen a las rickettsias en cuanto a su capacidad para sintetizar ATP; las clamydias no pueden sintetizar ATP.

Datos clínicos

Las manifestaciones clínicas de las ehrlichiosis en humanos son inespecíficas: fiebre, temblores, cefalalgia, mialgia, náusea o vómito, anorexia y pérdida de peso. Tales manifestaciones son muy similares a aquellas del mal de montaña o fiebre manchada de las Montañas Rocosas sin exantema. *E. chaffeensis*, frecuentemente, y *E. phagocytophila* no tan a menudo, causan una enfermedad grave o fatal. Los estudios de seroprevalencia sugieren que la ehrlichiosis subclínica se presenta con gran frecuencia.

Datos de laboratorio

El diagnóstico se confirma mediante la observación de las mórulas típicas dentro de leucocitos. La prueba de anticuerpos fluorescentes directos también se puede emplear para fines de confirmación. Los anticuerpos se cuantifican en contra de *E. chaffeensis* y de *E. phagocytophila*. *E. chaffeensis* también se utiliza como sustrato para *E. ewingii*, puesto que las dos especies comparten antígenos. La seroconversión de < 1:64 a ≥ 1:128, o a una elevación de cuatro veces o más de la titulación, confirma el diagnóstico serológico de ehrlichiosis monocitotrófica humana en un paciente que presenta una enfermedad clínicamente compatible.

Se han descrito diversos métodos para la detección por PCR de las ehrlichias en sangre anticoagulada con EDTA. También se puede usar el cultivo con una diversidad de líneas celulares de cultivo tisular. La PCR y el cultivo se llevan a cabo en laboratorios de referencia y en un número pequeño de laboratorios comerciales.

Tratamiento

Las tetraciclinas, casi siempre en la forma de doxiciclina, son bactericidas para las ehrlichias y son el tratamiento de elección. Las rifamicinas también son ehrlichicidas.

Epidemiología y prevención

La incidencia de ehrlichiosis humanas no está bien definida; en Oklahoma, ciudad que cuenta con la incidencia más alta de mal de montaña o fiebre manchada de las Montañas Rocosas, la ehrlichiosis monocitotrófica humana es tan común como esta última. Se cree que la ehrlichiosis granulocitotrófica humana se presenta con una tasa de 15 casos por 100 000 habitantes en la región medio oriental norte de Oklahoma y con tasas aún más altas en algunos condados selectos.

Más de 90% de los casos se presentan entre mediados de abril y octubre, y más de 80% de los casos totales afectan al sexo masculino. La mayoría de los pacientes tienen antecedentes de exposición a garrapatas un mes antes de comenzar la enfermedad. Los casos de ehrlichiosis monocitotrófica humana se han presentado en más de 30 estados, principalmente en las regiones del centro sur y del oriente sur de EUA. Esta área corresponde a la zona de distribución de la garrapata *Lone Star* (estrella solitaria), *Amblyomma americanum*. Los casos de ehrlichiosis monocitotrófica humana en el occidente de EUA, y en Europa y África, sugieren la existencia de otros ácaros vectores como *Dermacentor variabilis*. Los casos reportados de ehrlichiosis granulocitotrófica humana se han suscitado en la región superior del Medio Oriente y de la costa oriental y en los estados de la costa occidental de EUA; tales áreas corresponden a la zona de distribución de los ácaros vectores *Ixodes scapularis* e *Ixodes pacificus*, respectivamente.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Un deportista de edad madura, residente de Oklahoma, realizó una caminata por un área rural boscosa y cubierta de maleza cerca de su casa. A la siguiente mañana notó y eliminó una garrapata grande (> 1 cm) de su brazo superior. Cerca de una semana después, experimentó un inicio gradual de fiebre y malestar general. Ahora busca atención médica debido a su preocupación acerca de una posible infección transmitida por la garrapata. ¿Cuál de las siguientes enfermedades tiene más probabilidades de ser adquirida de una garrapata?
 - Dengue
 - Fiebre manchada de las Montañas Rocosas
 - Tifo
 - Fiebre amarilla
 - Malaria
- ¿Cuál de los enunciados siguientes acerca de las *Ehrlichia* y la ehrlichiosis es más correcto?
 - Los perros y ratones son reservorios
 - Los mosquitos son los transmisores
 - La ampicilina es el tratamiento de elección
 - El cultivo es un buen método para confirmar el diagnóstico
 - Por lo común las *ehrlichias* se encuentran en linfocitos
- ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca del tifo epidémico (enfermedad por *Rickettsia prowazekii*) es más correcta?
 - La enfermedad se presenta sobre todo en el África subsahariana
 - Lo transmiten las garrapatas
 - Los ratones son el reservorio
 - Históricamente, la enfermedad se presenta en tiempos de prosperidad
 - El recrudecimiento se presenta muchos años después de la infección inicial

- Una semana después de la caza de un venado en un área boscosa, un hombre de 33 años de edad presenta fiebre de 39 °C con cefalea y malestar general. Durante las 24 h posteriores tuvo náuseas, vómito, dolor abdominal y diarrea. En el cuarto día le apareció exantema, al inicio alrededor de las muñecas y tobillos, que evolucionó de forma progresiva, y afectó brazos, tronco, palmas y plantas de los pies. Al principio el exantema fue macular, pero pronto evolucionó a maculopápulas, algunas con petequia central. Se le diagnosticó fiebre manchada de las Montañas Rocosas causada por *Rickettsia rickettsii*. ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca de la fiebre manchada de las Montañas Rocosas es correcta?
 - Los vectores de *Rickettsia rickettsii* son garrapatas del género *Ixodes*
 - Aparece exantema de forma consistente el cuarto día de la enfermedad
 - Rickettsia rickettsii* forma inclusiones en monocitos
 - Es posible que la respuesta de los anticuerpos del paciente no se presenta hasta después de la segunda semana de enfermedad
 - La incidencia más alta de esta enfermedad es en los estados de las Montañas Rocosas
- Un grupo de adolescentes urbanos visitó un rancho de ovejas en un gran estado del oeste durante dos semanas. Mientras estuvieron allí, muchas de las ovejas preñadas parieron ante la presencia de los adolescentes. Cerca de 10 días después, tres de los adolescentes presentaron síntomas de enfermedad parecida a la gripe, caracterizada por malestar general, tos y fiebre. En la radiografía de tórax se observó que uno tenía un infiltrado, lo que indicaba neumonía. Los tres adolescentes tenían diferentes médicos, pero cada uno tomó una muestra de sangre y lo envió al departamento de salud de la ciudad para examen serológico. Las tres muestras dieron resultados positivos para fiebre Q. Los investigadores de salud pública determinaron que los adolescentes habían estado en el rancho de ovejas. Cuando los investigadores contactaron al rancho, se les dijo que allí no había fiebre Q y que ninguno de los que vivían en el rancho había estado enfermo. La explicación más probable para la enfermedad de los adolescentes y la ausencia de enfermedad en el rancho es:
 - No había fiebre Q en el rancho, y se adquirió en alguna otra parte
 - Las personas del rancho habían sido inmunizadas antes contra la fiebre Q
 - Los adolescentes adquirieron la fiebre Q en el rancho y las personas que vivían allí habían padecido fiebre Q y ahora estaban inmunizadas
 - Los adolescentes tenían otras enfermedades y la serología de fiebre Q positiva no tenía relación
 - El laboratorio de salud pública tuvo errores en las pruebas serológicas de fiebre Q

Respuestas: 1 = B; 2 = A; 3 = E; 4 = D; 5 = C

REFERENCIAS

Aguero-Rosenfeld ME, Dumler JS: Ehrlichia, Anaplasma, Neorickettsia, and Aegyptianella. In: Manual of Clinical

Microbiology, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.

Buller RS *et al.*: *Ehrlichia ewingii*, a newly recognized agent of human ehrlichiosis. N Engl J Med 1999;341:148.

Fournier P-E, Marrie TJ, Raoult D: Diagnosis of Q fever. J Clin Microbiol 1998;36:1823

Section E: Rickettsioses and Ehrlichioses. In: *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*,

5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.

Thorner AR, Walker DH, Petri WA Jr: Rocky Mountain Spotted fever. Clin Infect Dis 1998; 27:1353.

Walker DH *et al.*: Diagnosing human ehrlichioses: Current status and recommendations. ASM News 2000;66:287.

Clamidias

Las clamidias que infectan humanos (figura 28-1) se dividen en tres especies: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* y *Chlamydia psittaci*, con base en su composición antigénica, inclusiones intracelulares, susceptibilidad a sulfonamidas y enfermedad que producen. Una cuarta especie, *Chlamydia pecorum*, infecta a una gran variedad de animales, pero no se conoce su capacidad para infectar humanos. Todas las clamidias muestran características morfológicas similares, comparten un antígeno común de grupo, y se multiplican en el citoplasma de sus células huésped mediante un ciclo de desarrollo peculiar. Las clamidias pueden considerarse como bacterias gramnegativas carentes de mecanismos para producir energía metabólica y no pueden sintetizar trifosfato de adenosina (ATP). Este defecto las restringe a una existencia intracelular, la célula huésped les proporciona intermediarios ricos en energía; por tanto, las clamidias son parásitos intracelulares obligados.

Ciclo de desarrollo

Todas las clamidias tienen un ciclo reproductivo común. La partícula infectante, estable en el ambiente, es una célula pequeña (**cuerpo elemental** [CE]) de casi 0.3 µm de diámetro con nucleóide electrodensito. Las proteínas de membrana CE (cuerpo elemental o EB del inglés *elementary body*) tienen fuertes enlaces cruzados. Los CE poseen una gran afinidad por las células epiteliales del huésped, en las cuales penetran rápidamente. Es muy probable que existan múltiples adhesinas, receptores y mecanismos de entrada. Los proteoglicanos parecidos al sulfato de heparina localizados en la superficie de *C. trachomatis* representan la posibilidad más cercana para la mediación de, al menos, la interacción inicial entre los CE y las células huésped. Otras adhesinas potenciales incluyen a la proteína principal de la membrana externa (MOMP, del inglés *major outer membrane protein*), a la MOMP glucosilada y otras proteínas de superficie. Los mecanismos mediante los cuales se piensa que la bacteria penetra la célula huésped también son muy variados. Los CE por lo general se fijan cerca de la base de las microvellosidades, donde posteriormente serán engullidos por la célula huésped. Más de un mecanismo parece ser funcional: a) endocitosis mediada por receptores dentro de

cavidades cubiertas de clatrina y b) pinocitosis a través de cavidades sin cubierta. La fusión lisosomal se inhibe por medio de un mecanismo desconocido, creando así un medio protegido para la fijación a membrana alrededor de la clamidia. Muy pronto después de la entrada a la célula huésped, los puentes disulfuro de las proteínas de membrana CE ya no presentan enlaces cruzados y el cuerpo elemental se reorganiza convirtiéndose en un **cuerpo reticulado** (CR o RB del inglés *reticulate body*) que mide alrededor de 0.5 a 1 µm y desprovisto del nucleóide electrodensito. Dentro de la vacuola de fijación a membrana, el CR crece en tamaño y se divide repetidamente mediante fisión binaria. Posteriormente, la vacuola entera se llena de cuerpos elementales derivados de los cuerpos reticulados para así formar una **inclusión** citoplásmica. Los cuerpos elementales recién formados pueden ser liberados por la célula huésped para infectar células nuevas. El ciclo del desarrollo toma 24 a 48 h.

Estructura y composición química

En las clamidias, la **pared celular** externa semeja la pared celular de las bacterias gramnegativas. Posee un contenido relativamente grande de lípidos. Es rígida pero no contiene los peptidoglucanos típicos de las bacterias: tal vez contiene una matriz de tetrapéptidos enlazados. En las clamidias se encuentran proteínas fijadoras de penicilinas, y la formación de la pared celular se inhibe con la penicilina y otros fármacos inhibidores de la transpeptidación del peptidoglucano bacteriano. La lisozima no tiene efecto sobre la pared celular de las clamidias. Al parecer, la pared celular de la clamidia carece de ácido *N*-acetilmurámico. En los cuerpos elementales y reticulados se encuentran DNA y RNA. Los cuerpos reticulados contienen casi cuatro veces más RNA que DNA, en tanto que los cuerpos elementales tienen cantidades aproximadamente iguales de ambos. En los cuerpos elementales, la mayor parte del DNA se concentra en el nucleóide central electrodensito. La mayor parte del RNA se encuentra en los ribosomas. El genoma circular de las clamidias ($PM\ 7 \times 10^8$) es similar al de los cromosomas bacterianos.

El genoma completo del género clamidia ya fue secuenciado como parte del Proyecto Genoma de *Clamidia*.

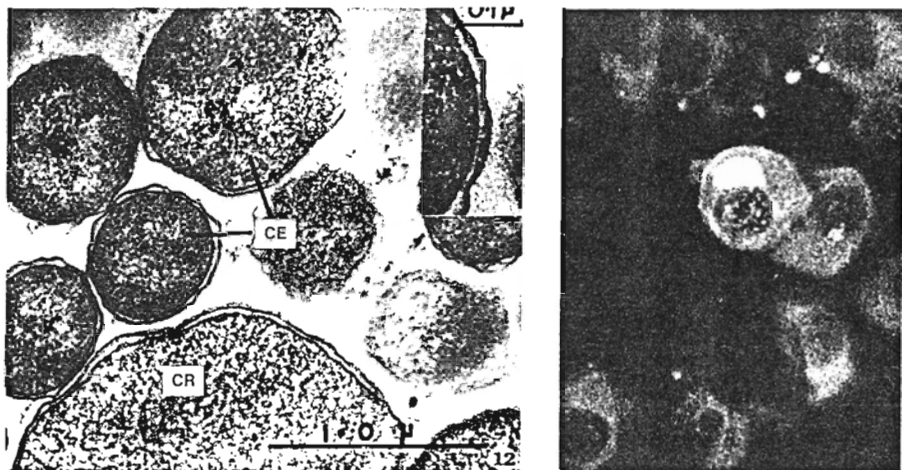


Figura 28-1. Clamidias. **Izquierda:** clamidias en varias etapas de desarrollo intracelular (CE, partículas del cuerpo elemental dentro de la pared de la célula; CR, cuerpo reticulado). **Derecha:** cuerpo de inclusión fluorescente de la *C. trachomatis* en las células epiteliales (raspado conjuntival) teñidas con antisuero específico marcado con fluoresceína.

Propiedades de tinción

Las clamidias poseen propiedades particulares de tinción (similares a las de rickettsias). Los cuerpos elementales se tiñen de color púrpura con tinción de Giemsa, en contraste con el color azul del citoplasma de la célula huésped. Los cuerpos reticulados de mayor tamaño y no infectantes se tiñen de azul con la tinción de Giemsa. En las clamidias, la reacción de Gram es negativa o variable y no es útil para identificar estos agentes. Las partículas e inclusiones de las clamidias se tiñen de colores brillantes mediante inmunofluorescencia con anticuerpos específicos de grupo, específicos de especie o específicos a variedad serológica.

Las inclusiones intracelulares maduras totalmente formadas de *C. trachomatis* son masas compactas cercanas a los núcleos, las cuales al tratarse con tinción de Giemsa adquieren color púrpura oscuro debido a las partículas maduras densamente compactadas. Si se tiñen con solución diluida de yodo Lugol, algunas de las inclusiones de la *C. trachomatis* (pero no de la *C. pneumoniae* o de la *C. psittaci*) aparecen de color marrón debido a la matriz de glucógeno que rodea las partículas. Las inclusiones de la *C. psittaci* son agregados intracitoplásmicos difusos.

Antígenos

Las clamidias poseen **antígenos específicos compartidos por el grupo (de género)**, éstos son lipopolisacáridos termolábiles con el ácido 2-ceto-3-desoxioctónico como el componente inmunodominante. Se pueden detectar anticuerpos a estos antígenos específicos de género mediante fijación del complemento (FC) e inmunofluorescencia. Los

antígenos específicos de especie o específicos a variedad serológica son principalmente proteínas de la membrana externa. Los antígenos específicos se detectan mejor mediante **inmunofluorescencia**, en particular con empleo de anticuerpos monoclonales. Sólo un limitado número de clamidias comparte antígenos específicos. Hay por lo menos 15 variedades serológicas de *C. trachomatis*; éstas son A, B, Ba, C-K y L1-L3. Diferentes variedades serológicas de la *C. psittaci* pueden demostrarse mediante FC y pruebas de microinmunofluorescencia. Sólo se ha descrito una variedad serológica de *C. pneumoniae*.

Crecimiento y metabolismo

Las clamidias requieren un hábitat intracelular, puesto que son incapaces de sintetizar ATP y dependen de la célula huésped para sus requerimientos energéticos. Las clamidias crecen en cultivo de varias líneas de eucariotes. Por lo regular, se utilizan células McCoy tratadas con cicloheximida para aislar las clamidias; la *C. pneumoniae* crece mejor en células HL o HEp-2. Todos los tipos de clamidia proliferan en huevos embrionados, en particular dentro del saco vitelino.

Algunas clamidias poseen un metabolismo endógeno igual que otras bacterias. Pueden liberar CO_2 a partir de glucosa, piruvato y glutamato, también contienen deshidrogenasas. No obstante, para efectuar sus actividades de biosíntesis requieren los intermediarios ricos en energía de la célula huésped.

Muchos antibacterianos pueden inhibir la multiplicación de las clamidias. Los inhibidores de la pared celular (como penicilinas y cefalosporinas) dan lugar a formas

morfológicamente defectuosas, pero no son eficaces en la enfermedad clínica. Los inhibidores de síntesis de las proteínas (tetraciclina, eritromicina) son eficaces en casi todas las infecciones clínicas. Las cepas de *C. trachomatis* sintetizan folatos y son susceptibles a la inhibición por sulfonamidas. Los aminoglicósidos no son inhibidores.

Características de la interrelación huésped parásito

La característica biológica más notable de la infección por clamidia es el equilibrio que con frecuencia se alcanza entre el huésped y el parásito, y que resulta en una infección prolongada persistente. En los huéspedes naturales de estos agentes la regla es la infección subclínica —y la excepción la enfermedad declarada—. La propagación de una especie a otra (p. ej., aves a humanos, como en la psitacosis) con frecuencia conduce a la enfermedad. El huésped infectado regularmente produce anticuerpos a varios antígenos de clamidias. Estos anticuerpos tienen escaso efecto protector contra la reinfección. Por lo general, el agente infectante persiste en presencia de títulos aumentados de anticuerpos. El tratamiento con antimicrobianos eficaces (p. ej., tetraciclinas) durante periodos prolongados puede eliminar las clamidias del huésped infectado. Al principio, el tratamiento intensivo puede suprimir la formación de anticuerpos. El tratamiento tardío con antimicrobianos en dosis moderadas puede suprimir la enfermedad, pero permite la persistencia del agente infectante en los tejidos.

En los humanos, la inmunización ha tenido muy poco éxito, en particular para proteger contra reinfección. En la mayor parte de los casos, una infección o inmunización

previa tiende a producir enfermedad más leve durante la reinfección, pero a veces la hipersensibilización acompañante agrava la inflamación y la cicatrización (p. ej., en el tracoma).

Clasificación

Las clamidias se clasifican según su potencial patógeno, variedad de huéspedes, diferencias antigénicas y otros criterios. Se han caracterizado tres especies que infectan humanos (véase cuadro 28-1).

A. *C. trachomatis*

Esta especie produce inclusiones intracitoplásmicas compactas que contienen glucógeno; generalmente se inhibe con sulfonamidas. Incluye agentes de enfermedades humanas como tracoma, conjuntivitis de inclusión, uretritis no gonocócica, salpingitis, cervicitis, neumonitis del lactante y linfogranuloma venéreo. Una variante de *C. trachomatis* también causa neumonitis en ratones.

B. *C. pneumoniae*

Esta especie produce inclusiones intracitoplásmicas carentes de glucógeno; en general, es resistente a la sulfonamida. En los humanos causa infección del aparato respiratorio.

C. *C. psittaci*

Esta especie produce inclusiones intracitoplásmicas difusas sin glucógeno; por lo general son resistentes a las sulfonamidas. Incluye los agentes de la psitacosis en humanos, ornitosis en aves, meningoneumonitis y neumonitis felina, así como otras enfermedades de animales.

Cuadro 28-1. Características de las clamidias

	<i>C. trachomatis</i>	<i>C. pneumoniae</i>	<i>C. psittaci</i>
Morfología de la inclusión	Redonda, vacuolar	Redonda, densa	Grande, forma variable, densa
Glucógeno en las inclusiones	Sí	No	No
Morfología de los cuerpos elementales	Redonda	Piriforme, redonda	Redonda
Susceptibilidad a las sulfonamidas	Sí	No	No
Homología del DNA con <i>C. pneumoniae</i>	< 10%	100%	< 10%
Plásmidos	Sí	No	Sí
Variedades serológicas	15	1	≥ 4
Huésped natural	Humanos	Humanos	Aves
Modo de transmisión	Persona a persona, madre a hijo	Persona a persona a través del aire	Excreta de aves a humanos a través del aire
Principales enfermedades	Tracoma, enfermedades de transmisión sexual, neumonía del lactante, linfogranuloma venéreo	Neumonía, bronquitis, faringitis, sinusitis	Psitacosis, neumonía, fiebre de origen inexplicable

CHLAMYDIA TRACHOMATIS: INFECCIONES OCULAR, GENITAL Y RESPIRATORIA

Los humanos son el huésped natural de la *C. trachomatis*. Los monos y los chimpancés pueden infectarse en los ojos y en el aparato genital. La *C. trachomatis* también se multiplica en células de cultivo de tejidos. Diferentes variedades serológicas de la *C. trachomatis* se multiplican de manera distinta. Los microorganismos aislados del tracoma no crecen tan bien como los aislados del linfogranuloma venéreo o de las infecciones genitales. La multiplicación intracitoplásmica genera inclusiones compactas con una matriz de glucógeno en la cual se encuentran integrados los cuerpos elementales.

Los antisueros específicos de inmunotipo permiten tipificar los microorganismos aislados con resultados análogos a los logrados mediante tipificación por microinmunofluorescencia. Las variedades serológicas relacionadas de manera específica con tracoma endémico son A, B, Ba y C; las asociadas con las enfermedades transmitidas por vía sexual son D a K; y las que causan linfogranuloma venéreo son L1, L2 y L3.

TRACOMA

El tracoma es una antigua enfermedad de los ojos, bien descrita en el papiro de Ebers, escrito en Egipto hace 3 800 años. Es una queratoconjuntivitis crónica que comienza con cambios inflamatorios agudos en la conjuntiva y en la córnea, y evoluciona hacia la cicatrización y ceguera.

Datos clínicos

En las infecciones experimentales humanas, el periodo de incubación es de 3 a 10 días. En las áreas endémicas, la infección inicial se presenta en la infancia temprana y el inicio es insidioso. En dichas áreas, la infección por clamidia con frecuencia se acompaña de una conjuntivitis bacteriana y, en conjunto, producen el cuadro clínico. Los síntomas iniciales de tracoma son lagrimeo, secreción mucopurulenta, hipermia de la conjuntiva e hipertrofia folicular. El examen microscópico de la córnea revela queratitis epitelial, infiltrados subepiteliales y extensión de los vasos del limbo al interior de la córnea (pannus). Conforme el pannus se extiende a través de la córnea, hay cicatrización de la conjuntiva, deformidad de los párpados (entropión, triquiasis) y lesiones añadidas causadas por el barrido de las pestañas sobre la córnea. La pérdida de la visión progresa durante varios años con infección bacteriana secundaria. Sin embargo, no existen síntomas o signos sistémicos de infección.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico por medio de laboratorio de las infecciones clamídicas se tratará también en el capítulo 47.

A. Cultivo

En las células epiteliales del raspado conjuntival teñido con anticuerpo fluorescente o con el método de Giemsa se encuentran las inclusiones citoplásmicas típicas. Estas aparecen con mayor frecuencia en las etapas iniciales de la enfermedad y sobre la conjuntiva tarsal superior.

La inoculación del raspado conjuntival en cultivo de células McCoy tratado con cicloheximida permite el crecimiento de la *C. trachomatis*, si el número de partículas infectantes viables es lo bastante grande. La centrifugación del inóculo en las células aumenta la sensibilidad del método. A veces, el diagnóstico se puede establecer en el primer subcultivo luego de 2 a 3 días de incubación, al observar la presencia de inclusiones mediante inmunofluorescencia, tinción con yodo o tinción de Giemsa.

B. Serología

Con frecuencia, las personas infectadas desarrollan anticuerpos de grupo y específicos de variedad serológica en el suero y secreciones oculares. El método más eficaz para detectarlos es la inmunofluorescencia. Ni los anticuerpos oculares ni los séricos confieren resistencia significativa a la reinfección.

Tratamiento

En las regiones endémicas se emplean sulfonamidas, eritromicinas y tetraciclinas para suprimir clamidias y bacterias causantes de infecciones oculares. Las aplicaciones tópicas periódicas de estos fármacos a la conjuntiva de todos los miembros de la comunidad a veces pueden ser complementadas con dosis por vía oral; la dosis y la frecuencia de administración varía según la región geográfica y la gravedad del tracoma endémico. Incluso una sola dosis mensual de 300 mg de doxiciclina puede producir mejoría clínica significativa y reducir el peligro de ceguera. La aplicación tópica de corticosteroides no está indicada y puede reactivar un tracoma latente. En ocasiones las clamidias persisten durante y después del tratamiento con fármacos y las recidivas son comunes.

Epidemiología y control

Se estima que más de 400 millones de personas están infectadas con tracoma en el mundo y que 20 millones están ciegos por esa razón. La enfermedad es más prevalente en África, Asia y la cuenca del Mediterráneo, donde las condiciones higiénicas son deficientes y el agua es escasa. En estas regiones hiperendémicas la infección en la infancia puede ser universal y es común la enfermedad grave con ceguera (resultante de la sobreinfección bacteriana frecuente). En ciertas regiones de EUA el tracoma aparece de manera esporádica y persisten focos endémicos.

El control del tracoma depende principalmente de mejorar las normas de higiene y del tratamiento farmacológico. Cuando los niveles socioeconómicos mejoran en la región, el tracoma se vuelve más leve y con el tiempo puede desaparecer. Las vacunas experimentales contra tracoma no han dado resultados alentadores. En los casos avanzados a veces se requiere la corrección quirúrgica de las deformidades de los párpados.

INFECCIONES GENITALES Y CONJUNTIVITIS DE INCLUSIÓN POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

Las variedades serológicas D a K de la *C. trachomatis* causan enfermedades transmitidas por vía sexual —sobre todo en los países desarrollados— y también pueden producir infección del ojo (conjuntivitis de inclusión). En los varones sexualmente activos, la *C. trachomatis* causa uretritis no gonocócica y, en ocasiones, epididimitis. En las mujeres, la *C. trachomatis* causa uretritis, cervicitis y enfermedad pélvica inflamatoria, la cual puede conducir a esterilidad y predisponer al embarazo ectópico. Cualquiera de estos sitios anatómicos de infección puede dar lugar a síntomas y signos, o a veces la infección permanece asintomática, pero es transmisible a la pareja sexual. Hasta 50% de las uretritis no gonocócicas (varones) o del síndrome uretral (mujeres) se atribuye a clamidias y produce disuria, secreción no purulenta y micción frecuente. Los adultos infectados pueden autoinocularse secreciones genitales en la conjuntiva y como resultado se produce conjuntivitis de inclusión, una infección ocular muy parecida al tracoma.

El recién nacido se infecta a su paso por el canal del parto infectado. Tal vez 20 a 50% de los lactantes hijos de madres infectadas contraen la infección; 15 a 20% de los lactantes infectados manifiestan síntomas oculares y 10 a 20% afección del aparato respiratorio. La conjuntivitis de inclusión del recién nacido empieza como una conjuntivitis mucopurulenta 7 a 12 días después del parto. Tiende a ceder con tratamiento a base de eritromicina o tetraciclina, o de manera espontánea después de semanas o meses. En ocasiones, en las regiones no endémicas la conjuntivitis de inclusión persiste como infección clamidial crónica con un cuadro clínico indistinguible del tracoma de la infancia, subagudo o crónico, y generalmente no vinculado con conjuntivitis bacteriana.

Diagnóstico de laboratorio

A. Cultivo

Recolectar muestras endocervicales después de retirar la secreción del cérvix. Mediante hisopo o cepillo para citología se practica raspado de células epiteliales de 1 a 2 cm de profundidad en el endocérvix. Se emplea un método similar para recolectar muestras de la vagina, uretra o conjuntiva. También es posible cultivar las muestras de biopsia de trompa uterina o del epidídimo. Para recolectar la muestra se puede utilizar un hisopo de plástico recubierto con algodón, algodón, rayón o alginato de calcio; algunos otros materiales y los hisopos de madera son tóxicos para la clamidia. Las muestras del exudado deben colocarse en un medio para transporte de clamidia y mantenerse a la temperatura del refrigerador antes de enviarlas al laboratorio. Se hacen crecer células McCoy en monocapas sobre cubreobjetos en frascos ampulla. Algunos laboratorios utilizan placas de microdilución con celdas de fondo plano, pero los cultivos por este método no son tan sensibles como los logrados con el método del frasco ampulla. Las células McCoy se tratan con cicloheximida para inhibir el metabolismo

y aumentar la sensibilidad para el aislamiento de la clamidia. El inóculo de la muestra de exudado se centrifuga sobre la monocapa y se incuba entre 35 a 37 °C durante 48 a 72 h. Se puede inocular una segunda monocapa, y después de la incubación a veces es sonicada y se pasa a otra monocapa para incrementar la sensibilidad. Las monocapas se examinan mediante inmunofluorescencia directa para visualizar las inclusiones citoplásmicas. El cultivo de clamidias por este método tiene una sensibilidad de 80%, pero una especificidad de 100%.

B. Examen citológico directo (anticuerpo fluorescente directo o DFA; del inglés Direct Fluorescent Antibody) e inmunoanálisis enzimático (EIA; del inglés Enzyme-Linked Immunoassay)

En los laboratorios que no tienen experiencia o instalaciones para efectuar el cultivo, pueden emplearse los ensayos DFA y EIA disponibles en el mercado para detectar la *C. trachomatis*. Las muestras se recolectan con técnicas similares a las utilizadas en la recolección de las muestras para cultivo. Algunas pruebas usan muestras de orina. La prueba DFA emplea anticuerpos monoclonales dirigidos contra un antígeno específico de especie sobre la proteína principal de la membrana externa de la clamidia (MOMP; del inglés *major outer membrane protein*). El EIA detecta antígenos lipopolisacáridos específicos de género extraídos de los cuerpos elementales en la muestra. La sensibilidad del DFA es de 80 a 90%, y la especificidad de 98 a 99%. La sensibilidad del EIA es de 80 a 95% y la especificidad de 98 a 99% cuando se le compara con el cultivo.

C. Detección de ácido nucleico

Las muestras empleadas en métodos moleculares para diagnosticar la *C. trachomatis* son iguales a las empleadas para cultivo; también se puede analizar la orina. En un método disponible en el mercado se utiliza una sonda de DNA quimioluminiscente, la cual hibrida con una secuencia de rRNA 16S específica de especie de clamidia; las clamidias poseen hasta 10⁴ copias del rRNA 16S. Una vez formados los híbridos se absorben sobre esferillas y la cantidad de quimioluminiscencia se puede detectar en un luminómetro. La sensibilidad y la especificidad totales de este método son de casi 85% y 98 a 99%, respectivamente.

También se han desarrollado y lanzado al mercado pruebas para amplificar ácido nucleico. Una prueba se basa en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y otras en la reacción en cadena de la ligasa (LCR). Estas pruebas son mucho más sensibles que el cultivo y otras pruebas sin amplificación, e hicieron necesario redefinir la sensibilidad de las pruebas de laboratorio para comprobar la infección por clamidia. La especificidad de la prueba parece aproximarse a 100%. Las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos son las pruebas de elección para el diagnóstico de infecciones genitales por *C. trachomatis*.

D. Serología

En infecciones del aparato genital, la masa antigénica de las clamidias es relativamente grande, aparecen anticuerpos séricos con mayor frecuencia en comparación con tracoma y se encuentran en títulos más altos. Los títulos

aumentan durante y después de la infección aguda por clamidia. Dada la gran prevalencia de las infecciones por clamidia en el aparato genital en ciertas comunidades, existe un intenso fondo de anticuerpos anticlamidia en la población; en general, las pruebas serológicas para diagnosticar la infección por clamidia en el aparato genital no son útiles.

En las secreciones genitales (p. ej., cervical) se pueden detectar anticuerpos durante la infección activa, los cuales están dirigidos contra el inmunotipo infectante (variedad serológica).

Tratamiento

Para evitar la reinfección es indispensable tratar las infecciones por clamidia simultáneamente en ambos miembros de la pareja sexual y en los descendientes. En la uretritis no gonocócica y en las mujeres infectadas no embarazadas comúnmente se emplean tetraciclinas (p. ej., doxiciclina). La azitromicina es eficaz y se le puede administrar a las mujeres embarazadas. La tetraciclina o la eritromicina por vía local se utilizan en la conjuntivitis de inclusión, a veces combinadas con un fármaco sistémico.

Epidemiología y control

La infección genital por clamidia y la conjuntivitis de inclusión son enfermedades transmitidas por vía sexual que se propagan por contacto con parejas sexuales infectadas. La conjuntivitis neonatal de inclusión se origina en el aparato genital infectado de la madre. La prevención de la enfermedad ocular neonatal depende del diagnóstico y el tratamiento de la mujer embarazada y de su pareja sexual. Igual que en todas las enfermedades de transmisión sexual, se debe considerar la presencia de múltiples agentes etiológicos (gonococos, treponemas, tricomonas, herpes, etc.). La instilación de eritromicina o tetraciclina en los ojos de los recién nacidos no evita el desarrollo de la conjuntivitis por clamidia. El control último de ésta, y de todas las enfermedades transmitidas por vía sexual, depende de prácticas sexuales seguras, así como del diagnóstico y tratamiento oportunos de las personas infectadas.

AFECCIÓN DEL APARATO RESPIRATORIO POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS

De los recién nacidos infectados por su madre, 10 a 20% pueden desarrollar afección del aparato respiratorio 2 a 12 semanas después del nacimiento, la cual culmina en neumonía. La *C. trachomatis* puede ser la causa más común de neumonía neonatal. Hay taquipnea notable, tos paroxística característica, ausencia de fiebre y eosinofilia. En la radiografía puede observarse consolidación e hiperdistensión de los pulmones. Cuando un recién nacido con conjuntivitis de inclusión desarrolla neumonitis debe sospecharse el diagnóstico y puede confirmarse aislando a la *C. trachomatis*

de las secreciones respiratorias. En la neumonía neonatal, un título de anticuerpos IgM a la *C. trachomatis* de 1:32 o más se considera diagnóstico. En los casos graves la eritromicina sistémica es el tratamiento eficaz.

Los adultos con conjuntivitis de inclusión casi siempre manifiestan síntomas del aparato respiratorio superior (p. ej., otalgia, otitis, obstrucción nasal, faringitis), presumiblemente como resultado del drenaje de clamidias infectantes a través del conducto nasolacrimal. La neumonitis es poco frecuente en los adultos.

LINFOGRANULOMA VENÉREO

El linfogranuloma venéreo es una enfermedad transmitida por vía sexual y causada por la *C. trachomatis*; se caracteriza por adenitis inguinal supurativa: es más común en los climas tropicales.

Propiedades del agente

Las partículas contienen antígenos de grupo FC termoestables compartidos con todas las otras clamidias. También contienen 1 de los 3 antígenos de las variedades serológicas (L1 a L3) que pueden determinarse mediante inmunofluorescencia. Las partículas infecciosas contienen un principio tóxico.

Datos clínicos

De varios días a semanas después de la exposición se desarrolla una pequeña pápula o vesícula evanescente sobre cualquier parte de los genitales externos, ano, recto u otro sitio. La lesión puede ulcerarse, pero en general permanece inadvertida y cicatriza en unos cuantos días. Poco después, los ganglios linfáticos regionales se hipertrofian y tienden a estar apelotonados y dolorosos. En los varones, los ganglios inguinales son los afectados con mayor frecuencia, tanto arriba como por abajo del ligamento de Poupart, y la piel que cubre estos ganglios con frecuencia se torna de color púrpura conforme los ganglios supuran y finalmente secretan pus a través de múltiples trayectos fistulosos. En las mujeres y en los varones homosexuales, los ganglios perirectales son los más afectados con proctitis y secreción sanguinolenta y mucopurulenta por el ano. La linfadenitis puede ser más notable en las cadenas cervicales.

Con frecuencia, durante la etapa de linfadenitis activa hay síntomas sistémicos notables que incluyen fiebre, cefalalgia, meningismo, conjuntivitis, erupciones cutáneas, náuseas, vómito, y artralgias. Pocas veces se presentan meningitis, artritis y pericarditis. A menos que se administre un tratamiento eficaz a base de antimicrobianos en esta etapa, el proceso inflamatorio crónico progresa hasta fibrosis, obstrucción linfática y estenosis rectal. La obstrucción linfática puede producir elefantiasis del pene, escroto o vulva. La proctitis crónica de mujeres o de varones homosexuales puede evolucionar a estenosis rectal, obstrucción rectosigmoidea y formación de fistulas.

Diagnóstico de laboratorio

A. Frotis

Deben teñirse pus, bubones o material de biopsia, pero pocas veces se identifican las partículas.

B. Cultivo

El material sospechoso se inocula en cultivo de células McCoy. El inóculo puede tratarse con un aminoglucósido (pero no con penicilina) para reducir la contaminación bacteriana. El agente se identifica por su morfología y por pruebas serológicas.

C. Serología

Es común demostrar anticuerpos con la reacción FC. La prueba se hace positiva 2 a 4 semanas después del inicio de la enfermedad; en ese momento también se puede demostrar, a veces, hipersensibilidad cutánea. En un caso clínicamente compatible, el aumento de la concentración de anticuerpos o un solo título mayor de 1:64 es una buena evidencia de infección activa. Si el tratamiento ha erradicado la infección del linfogranuloma venéreo disminuye el título de anticuerpos FC. En el diagnóstico serológico del linfogranuloma venéreo se puede emplear inmunofluorescencia, pero el anticuerpo es ampliamente reactivo con muchos antígenos de clamidia.

Inmunidad

Si se trata, la infección tiende a ser crónica con persistencia del agente durante muchos años. Poco se sabe acerca de la inmunidad activa. La coexistencia de infección latente, anticuerpos y reacciones mediadas por células es típica de muchas infecciones por clamidia.

Tratamiento

Las sulfonamidas y tetraciclinas se han empleado con buenos resultados, sobre todo en las etapas iniciales. En algunas personas tratadas con fármacos hay una notable declinación de los anticuerpos fijadores del complemento, lo cual puede indicar que el agente infectante se ha eliminado del cuerpo. Las etapas tardías requieren cirugía.

Epidemiología y control

Aunque la mayor incidencia del linfogranuloma venéreo se ha informado en las regiones subtropicales y tropicales, la infección se presenta en todo el mundo. La enfermedad se propaga con mayor frecuencia por contacto sexual, pero no exclusivamente. A veces la puerta de entrada puede ser el ojo (conjuntivitis con síndrome oculoglandular). El aparato genital y el recto de las personas con infección crónica (pero a veces asintomática) sirven como reservorios de la infección. El personal de laboratorio expuesto a los aerosoles de las variedades serológicas L1 a L3 de la *C. trachomatis* puede desarrollar neumonitis clamidial con adenopatía del mediastino e hiliar. Cuando se identifica la infección, el tratamiento con tetraciclina o eritromicina es eficaz.

Las medidas adoptadas para el control de otras enfermedades de transmisión sexual también se aplican al control del linfogranuloma venéreo. Son indispensables la detección de casos y el tratamiento y el control oportunos de las personas infectadas.

INFECCIONES RESPIRATORIAS POR *CHLAMYDIA PNEUMONIAE*

La primera cepa de *C. pneumoniae* (TWAR) se aisló en 1960 en un cultivo del saco vitelino de embrión de pollo. Después del desarrollo de métodos de cultivo en células, se pensó que esta cepa inicial era un miembro de las especies de *C. psittaci*. Más tarde, la *C. pneumoniae* fue definitivamente establecida como una nueva especie causante de enfermedad respiratoria. El humano es el único huésped conocido.

Propiedades del agente

La *C. pneumoniae* produce inclusiones redondas, densas, negativas a glucógeno y resistentes a la sulfonamida, muy parecidas a las de *C. psittaci* (cuadro 28-1). A veces, los cuerpos elementales muestran forma de pera. La similitud genética entre los aislamientos de *C. pneumoniae* es >95%. Sólo se ha demostrado una variedad serológica.

Datos clínicos

La mayor parte de las infecciones con *C. pneumoniae* son asintomáticas o se vinculan con enfermedad leve, pero también se han informado enfermedades graves. No hay signos o síntomas que diferencien de manera específica las infecciones por *C. pneumoniae* de otras causadas por otros agentes. La enfermedad afecta tanto vías respiratorias superiores como inferiores. Es común la faringitis. Pueden presentarse sinusitis y otitis media, a veces acompañadas de enfermedad en las vías respiratorias inferiores. La enfermedad primaria reconocida es una neumonía atípica similar a la producida por *Mycoplasma pneumoniae*. Se cree que 5 a 20% de las neumonías contraídas en la comunidad por personas jóvenes son producidas por *C. pneumoniae*.

Diagnóstico de laboratorio

A. Frotis

La detección de los cuerpos elementales en las muestras clínicas mediante técnicas directas de anticuerpos fluorescentes es insensible. Otros colorantes no muestran de manera eficaz los microorganismos.

B. Cultivo

Las muestras de exudado faríngeo deben colocarse en un medio para transporte de clamidias y almacenarse a 4 °C; la

C. pneumoniae se inactiva rápidamente a temperatura ambiente. Crece poco en cultivo de células y forma inclusiones más pequeñas que las de otras clamidias. La *C. pneumoniae* crece mejor en células HL y HEp-2 que en células HeLa 229 o McCoy; las células McCoy se emplean ampliamente para cultivar *C. trachomatis*. La sensibilidad del cultivo puede incrementarse al añadir cicloheximida al medio de cultivo celular para inhibir el metabolismo de células eucariotas y por la centrifugación del inoculo sobre la capa de células. El crecimiento es mejor a 35 °C que a 37 °C. Después de tres días de incubación, las células se fijan y las inclusiones se detectan mediante tinción de anticuerpos fluorescentes con anticuerpos específicos para género o especie, o de preferencia, con un anticuerpo monoclonal específico para *C. pneumoniae* conjugado con fluoresceína. La tinción de Giemsa es insensible y las inclusiones negativas a glucógeno no se tiñen con yodo. Es relativamente difícil hacer crecer a la *C. pneumoniae*, según lo demuestra el número de aislados descritos en comparación con la incidencia de la infección.

C. Serología

La serología con pruebas de microinmunofluorescencia es el método más sensible para el diagnóstico de la infección por *C. pneumoniae*. La prueba es específica de especie y puede detectar anticuerpos IgG o IgM si se utilizan los reactivos apropiados. La infección primaria induce anticuerpos IgM después de casi tres semanas, seguidas por anticuerpos IgG a las 6 a 8 semanas. En la reinfección, la respuesta IgM puede estar ausente o ser mínima y la respuesta IgG aparece en 1 a 2 semanas. Para el diagnóstico serológico de *C. pneumoniae* se han sugerido los siguientes criterios: un solo título IgM $\geq 1:16$; un solo título IgG $\geq 1:512$; y un aumento del cuádruple en cualquiera de los títulos IgM o IgG.

También se ha empleado la prueba de fijación del complemento, pero es reactiva a grupo y no puede diferenciar la infección por *C. pneumoniae* de la psitacosis o del linfogranuloma venéreo; y es menos sensible que la prueba de microinmunofluorescencia.

Inmunidad

Poco se sabe acerca de la inmunidad activa o potencialmente protectora. Pueden presentarse infecciones prolongadas con *C. pneumoniae*, y son comunes los portadores asintomáticos.

Tratamiento

C. pneumoniae es susceptible a macrólidos y tetraciclinas, así como a algunas fluoroquinolonas. El tratamiento con doxiciclina, azitromicina o claritromicina parece beneficiar significativamente a los pacientes infectados por *C. pneumoniae*, aunque se dispone de datos muy limitados respecto de la eficacia del tratamiento antibiótico. Los reportes indican que los síntomas pueden continuar o recurrir después de finalizar los esquemas terapéuticos de rutina con eritromicina, doxiciclina o tetraciclina; estos fármacos se deben administrar en esquemas de 10 a 14 días.

Epidemiología

La infección con *C. pneumoniae* es común. En todo el mundo, 30 a 50% de las personas posee anticuerpos a la *C. pneumoniae*. Algunos niños pequeños tienen anticuerpos, pero después de 6 a 8 años de edad la prevalencia de anticuerpos aumenta hasta la edad adulta joven. La infección es endémica y epidémica, con múltiples brotes atribuidos a la *C. pneumoniae*. No se conoce reservorio animal alguno y se presume que la transmisión es de una persona a otra, predominantemente a través del aire.

Las líneas de evidencia sugestiva de que *C. pneumoniae* se relaciona con el desarrollo de enfermedad cerebrovascular y enfermedad aterosclerótica de la arteria coronaria consisten en estudios seroepidemiológicos, detección de *C. pneumoniae* en tejidos ateroscleróticos, estudios de cultivos celulares, modelos animales y estudios experimentales de la prevención de estos trastornos utilizando agentes antibióticos. Tal relación parece válida, aunque se requieren más estudios antes de establecer o descartar la causalidad.

CHLAMYDIA PSITTACI Y PSITACOSIS (ORNITOSIS)

El término "psitacosis" se aplica a la enfermedad humana causada por la *C. psittaci* contraída por contacto con aves, y también a la infección de pájaros psitacinos (loros, periquitos, cacatúas, etc.). El término "ornitosis" se aplica a la infección con agentes similares en todos los tipos de aves domésticas (palomas, pollos, patos, gansos, pavos, etc.) y pájaros que viven en libertad (gaviotas, airones, petreles, etc.). En los humanos, la *C. psittaci* produce una diversidad de manifestaciones clínicas que varían desde neumonía y septicemia graves con elevada tasa de mortalidad hasta la infección leve que no es evidente.

Propiedades del agente

La *C. psittaci* se puede propagar en huevos embrionados, ratones y otros animales, así como en algunos cultivos de células. El antígeno termoestable FC reactivo de grupo resiste a las enzimas proteolíticas y parece ser un lipopolisacárido. El tratamiento de la *C. psittaci* con desoxicolato y tripsina produce extractos que contienen antígenos FC reactivos de grupo, en tanto que las paredes celulares retienen los antígenos específicos de especie. Los anticuerpos a los antígenos específicos de especie tienen capacidad para neutralizar la toxicidad y la infecciosidad. Se pueden demostrar variedades serológicas características de ciertas especies de mamíferos y aves a través de tipificación mediante inmunofluorescencia. También se pueden emplear la neutralización de la infecciosidad del agente por anticuerpos específicos o la protección cruzada de animales inmunizados para la serotipificación, y los resultados son paralelos a los de tipificación mediante inmunofluorescencia.

Patogenia y patología

El agente penetra a través del aparato respiratorio, se encuentra en la sangre durante las primeras dos semanas de la enfermedad, y se puede observar en el esputo en el momento en que se afecta el pulmón.

La psitacosis produce una inflamación en la placa de los pulmones, en el cual se encuentran notablemente delimitadas las áreas de consolidación. En el exudado predominan los mononucleares. En los bronquiolos de grueso calibre y en los bronquios sólo se observan cambios menores. Las lesiones son similares a las encontradas en la neumonitis causada por algunos virus y micoplasmas. Con frecuencia se encuentran hipertrofiados y congestionados hígado, bazo, corazón y riñón.

Datos clínicos

Una enfermedad de inicio súbito que adopta la modalidad de influenza o neumonía no bacteriana en una persona expuesta a aves, sugiere psitacosis. El periodo de incubación promedio es de 10 días. El inicio suele ser súbito con malestar, fiebre, anorexia, dolor faríngeo, fotofobia y cefalea intensa. A veces la enfermedad no progresa más y el paciente mejora en pocos días. En los casos graves los signos y síntomas de bronconeumonía se presentan al final de la primera semana de la enfermedad. Con frecuencia, el cuadro clínico se asemeja a influenza, neumonía no bacteriana o fiebre tifoidea. La tasa de mortalidad puede ser muy alta, hasta 20% en los casos no tratados, sobre todo en ancianos.

Diagnóstico de laboratorio

A. Cultivo

El cultivo de *C. psittaci* puede ser peligroso, por lo que se prefiere la detección del organismo a través de inmunoensayos o de la reacción en cadena de polimerasa. Si es necesario, *C. psittaci* se puede cultivar a partir de sangre o esputo o de tejido pulmonar mediante el cultivo de células de cultivo tisular, huevos embrionados o ratones. El aislamiento de *C. psittaci* se confirma por medio de la transmisión seriada, su demostración microscópica e identificación serológica.

B. Detección de *C. psittaci*

La detección de antígenos mediante la tinción de anticuerpos fluorescentes directos, o de inmunoensayo o diagnóstico molecular a través de la reacción en cadena de la polimerasa, se lleva a cabo en laboratorios de investigación o de referencia.

C. Serología

El diagnóstico de psitacosis por lo general se confirma mediante la demostración de anticuerpos microinmunofluorescentes o fijadores de complemento en muestras séricas. Un caso confirmado es aquel con un cultivo positivo o con enfermedad clínica compatible, más un cambio de la titulación de anticuerpos de cuatro veces o más hasta al menos 1:32, o una titulación de IgM de microinmunofluorescencia de al menos 1:16. Un caso probable es aquel que presenta la en-

fermedad clínica compatible, relacionado epidemiológicamente con un caso confirmado o con una titulación de al menos 1:32 en una sola muestra. La prueba de fijación del complemento muestra reacción cruzada para *C. trachomatis* y *C. pneumoniae*. La prueba de microinmunofluorescencia (MIF) resulta más sensible y específica que la prueba de fijación del complemento (FC), aunque se llegan a presentar reacciones cruzadas. MIF permite la detección de IgM e IgG. Aunque generalmente se desarrollan anticuerpos antes de 10 días, el uso de antibióticos puede retardar su desarrollo hasta 20 a 40 días o suprimirlos por completo.

En los pájaros vivos, una prueba de FC positiva y la hipertrofia del bazo e hígado sugieren la infección. Se puede confirmar demostrando partículas en frotis o cortes de órganos y por paso del agente a ratones y huevos.

Inmunidad

La inmunidad en animales y humanos es incompleta. En los humanos el estado de portador puede persistir hasta 10 años después de la recuperación. Durante este periodo el agente puede seguirse excretando en el esputo.

Las vacunas vivas o inactivadas sólo inducen resistencia parcial en los animales. No se han utilizado en humanos.

Tratamiento

Las tetraciclinas son los fármacos de elección y debe continuarse su uso durante 10 días después de la defervescencia para evitar la recaída. Aunque el tratamiento con antibióticos puede controlar la evidencia clínica de la enfermedad, no puede liberar al paciente del agente: es decir, el paciente continúa como portador. El tratamiento intensivo con antibióticos también puede retardar el curso normal del desarrollo de los anticuerpos. A veces las cepas se hacen resistentes a los fármacos. Con la antibioticoterapia la tasa de mortalidad es de 2% o menos.

Epidemiología y control

En los humanos pueden presentarse brotes de enfermedad siempre que hay contacto estrecho y continuo entre éstos y los pájaros infectados que excretan o eliminan grandes cantidades del agente infectante. Con frecuencia, los pájaros contraen la infección como pollos en el nido, pueden desarrollar enfermedad diarreica o evolucionar sin enfermedad y por lo regular son portadores del agente infectante durante todo su periodo normal de vida. Cuando sufren estrés (p. ej., desnutrición, transporte), los pájaros manifiestan la enfermedad y mueren. El agente se encuentra en los tejidos (p. ej., bazo) y casi siempre los pájaros sanos lo excretan en las heces. La inhalación de heces secas de aves infectadas es el método más común para la infección de los humanos. Otras fuentes de infección son la manipulación de los tejidos infectados (p. ej., en plantas avícolas) y la inhalación de un aerosol infectado.

Los pájaros que se conservan como mascotas son una fuente importante de infección en los humanos. Entre éstas

son importantes el gran número de aves psitacinas importadas. Con frecuencia las infecciones latentes se hacen evidentes en estos pájaros durante el transporte y el hacinamiento, y los pájaros enfermos excretan cantidades excesivas del agente infectante. El control del embarque de pájaros, la cuarentena, las pruebas a los animales importados para detectar infección por psitacosis y la tetraciclina profiláctica en el alimento para pájaros ayudan a controlar esta fuente de infección. Las palomas mensajeras criadas como mascotas o para engorda también son fuente importante de infección. Las poblaciones de palomas en los edificios y la vía pública de muchas ciudades desprenden cantidades relativamente pequeñas del agente cuando se infectan.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- ¿Cuál de las siguientes declaraciones acerca de *Chlamydia pneumoniae* es más correcta?
 - La transmisión de persona a persona es por medio del aire
 - Forma inclusiones ricas en glucógeno que se tiñen con yodo
 - Hay múltiples variedades serológicas, incluidas tres que causan una enfermedad sistémica
 - Es resistente a macrólidos
 - El reservorio son los gatos domésticos
- Una adolescente acude a la clínica por presentar un flujo vaginal nuevo e inusual. Tiene poco de haber comenzado su actividad sexual y ha tenido dos nuevos compañeros durante el mes anterior. En el examen pélvico se observa flujo purulento en la abertura de su canal endocervical. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de este caso es más correcta?
 - Una prueba serológica para sífilis es inapropiada porque sus síntomas no son los de esta enfermedad
 - Una tinción de Gram de su muestra endocervical mostraría *Chlamydia trachomatis* dentro de las células polimorfonucleares
 - El diagnóstico diferencial incluye infección por *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis*
 - La muestra endocervical debe ser examinada en relación con herpes simple
 - El tratamiento inicial es con ampicilina
- En EUA, se sabe desde hace tiempo que la seroprevalencia para *Chlamydia trachomatis* se incrementa mucho durante los años de escuela primaria (6 a 10 años de edad). Una razón probable de esto es:
 - Infecciones frecuentes por adenovirus
 - Mayor incidencia de infecciones con *Chlamydia trachomatis*
 - Anticuerpos de reacción cruzada con proteína M de los estreptococos del grupo A (*Streptococcus pyogenes*)
 - Los niños con frecuencia tienen psitacosis
 - Infecciones frecuentes con *Chlamydia pneumoniae*
- ¿Cuál de las siguientes declaraciones acerca del tracoma es incorrecta?
 - Sigue a la infección ocular crónica o recurrente con *Chlamydia trachomatis*
 - Millones de personas a nivel mundial tienen tracoma
 - El tracoma se evita de manera fácil mediante una vacuna clamidial
 - El avance del tracoma se puede reducir mediante tratamiento intermitente con doxiciclina
 - El tracoma esté relacionado con cicatrización de la conjuntiva, deformidades del párpado y lesión de las pestañas a la cornea
- ¿Cuál de las siguientes afirmaciones no es parte del control de *Chlamydia psittaci* y psitacosis en pájaros?
 - Cuarentena de aves psitacinas importadas en EUA
 - Permitir sólo la venta de aves psitacinas incubadas en EUA
 - Examinar las aves en relación con la infección por *Chlamydia psittaci*
 - Controlar el envío de aves psitacinas
 - Poner tetraciclina en el alimento de aves psitacinas

Respuestas: 1 = A; 2 = C; 3 = E; 4 = C; 5 = B.

REFERENCIAS

- Chlamydial diseases. Vol 2. Section C In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (editors). Churchill Livingstone, 2000.
- Gilbert DN, Grayston JT (editors): The potential etiologic role of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerosis. J Infect Dis 2000;181(Suppl 3): [Entire issue.]
- Mahony JB, Coombs BK, Chernesky MA: *Chlamydia* and *Chlamydia*. In: Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. Murray PR et al. (editors). ASM Press, 2003.

SECCIÓN IV

Virología

Propiedades generales de los virus

Los virus son los agentes infecciosos más pequeños (varían de 20 a 300 nm de diámetro aproximadamente) y sólo contienen un tipo de ácido nucleico (RNA o DNA) como genoma. El ácido nucleico está encerrado en una cubierta de proteína a veces rodeada por una membrana que contiene lípidos. La unidad infecciosa íntegra se denomina virión. Los virus son inertes en el ambiente extracelular; sólo se multiplican dentro de células vivas y, por tanto, son parásitos a nivel genético. El ácido nucleico viral contiene la información necesaria para programar a la célula infectada del huésped a sintetizar las macromoléculas específicas del virus necesarias para generar la progenie viral. Durante el ciclo replicativo se produce un gran número de copias del ácido nucleico viral y de las proteínas de la cubierta. Éstas se ensamblan para formar la cápside que encierra el ácido nucleico viral y lo estabiliza contra el ambiente extracelular, facilitando así la unión y penetración del virus a las células susceptibles cuando se pone en contacto con ellas. La infección por virus puede tener efecto escaso o nulo sobre la célula del huésped, o provocar daño o muerte celular.

El universo de los virus abunda en diversidad. Los virus conocidos varían mucho en estructura, organización y expresión del genoma, y en estrategias de replicación y transmisión. La variedad de huéspedes para un virus determinado puede ser amplia o muy limitada. Se conocen virus que infectan organismos unicelulares, como micoplasmas, bacterias y algas, y también todas las plantas y animales superiores. En el capítulo 30 se estudian los detalles del efecto de la infección viral sobre el huésped.

Gran parte de la información acerca de las interrelaciones virus-huésped se ha obtenido a partir de estudios en bacteriófagos, virus que atacan bacterias. Este tema se analiza en el capítulo 7. Las propiedades de virus individuales se estudian en los capítulos 31 a 44.

TERMINOLOGÍA Y DEFINICIONES EN VIROLOGÍA (figura 29-1)

Cápside: cubierta proteínica o envoltura que encierra el genoma de ácido nucleico.

Capsómeros: unidades morfológicas observadas al microscopio electrónico sobre la superficie de las partículas virales icosaédricas. Los capsómeros representan gru-

pos de polipéptidos, pero las unidades morfológicas no corresponden necesariamente a las unidades estructurales definidas químicamente.

Envoltura: membrana que contiene lípidos y rodea algunas partículas virales. Se forma durante la maduración viral mediante un proceso de gemación a través de una membrana celular. Las glucoproteínas codificadas por el virus están expuestas sobre la superficie de la envoltura. Estas prolongaciones se denominan **peplómeros**.

Nucleocápside: complejo proteína-ácido nucleico que representa la forma empacada del genoma viral. Por lo general, este término se utiliza cuando la nucleocápside es una subestructura de una partícula viral más compleja.

Subunidad: cadena de polipéptido viral con un solo plegamiento.

Unidades estructurales: proteína de los elementos constitutivos básicos de la cubierta. Generalmente forman un conjunto de más de una subunidad proteínica no idéntica. Las unidades estructurales también se conocen como **protómeros**.

Virión: partícula viral completa. En algunos casos (papovavirus, picornavirus), el virión es idéntico con la nucleocápside; en viriones más complejos (herpesvirus, ortomixovirus), incluye la nucleocápside y la envoltura que la rodea. Esta estructura, el virión, sirve para transferir el ácido nucleico viral de una célula a otra.

Virus defectuoso: partícula viral funcionalmente deficiente en algún aspecto de la replicación.

ORIGEN EVOLUTIVO DE LOS VIRUS

Se desconoce el origen de los virus. Existen profundas diferencias entre virus DNA, virus RNA y virus que utilizan ambos ácidos nucleicos (DNA y RNA) como material genético propio durante etapas diferentes de su ciclo vital. Es posible que distintos tipos de agentes tengan orígenes distintos. Hay dos teorías para explicar el origen de los virus, que pueden resumirse de la manera siguiente:

- 1) Los virus pudieron derivarse de ácidos nucleicos componentes de las células huésped. DNA, RNA, que adquirieron la capacidad de replicarse de manera autónoma y evolucionar independientemente. Esto recuerda los

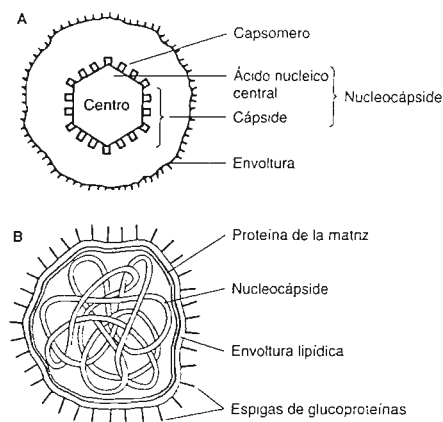


Figura 29-1. Diagrama que ilustra los componentes de la partícula viral completa (virión). **A:** Virus envuelto con simetría icosaédrica. **B:** Virus con simetría helicoidal.

genes que adquieren la capacidad de existir de manera independiente de las células. Algunas secuencias virales se vinculan con porciones de genes celulares y codifican dominios de proteínas funcionales. Es probable que al menos algunos virus hayan evolucionado de esta manera.

- 2) Los virus pueden ser formas degeneradas de parásitos intracelulares. No hay evidencia de que los virus evolucionaron a partir de bacterias, aunque otros organismos obligadamente intracelulares, por ejemplo, rickettsias y clamidias, presuntamente se originaron así. No obstante, los poxvirus son tan grandes y complejos que pueden representar productos evolutivos de algún ancestro celular.

CLASIFICACIÓN DE LOS VIRUS

Bases de la clasificación

Las siguientes propiedades pueden emplearse como base para una clasificación de virus. La cantidad de información disponible en cada categoría no es la misma para todos los virus. La manera de caracterizar los virus cambia con rapidez. En la actualidad es frecuente secuenciar el genoma como paso inicial para identificar un virus, a continuación se compara con una base de datos para ahorrar la necesidad de obtener datos más característicos (densidad de flotación del virión, etc.). Los datos de la secuencia genómica son criterios taxonómicos avanzados (p. ej., orden de los genes) y a veces constituyen la base para conformar una nueva familia de virus.

- 1) Morfología del virión, que incluye tamaño, forma, tipo de simetría, presencia o ausencia de peplómeros, y presencia o ausencia de membranas.

- 2) Propiedades del genoma del virus, que incluyen tipo de ácido nucleico (DNA o RNA), tamaño del genoma en kilobases (kb) o kilopares de bases (kpb), tipo de cadena (sencilla o doble), lineal o circular, sentido (positivo, negativo, ambos sentidos), segmentos (número, tamaño), secuencia de nucleótidos, contenido G + C, presencia de características especiales (elementos repetitivos, isomerización, extremo 5'-terminal, proteína unida al extremo 5'-terminal mediante unión covalente, segmento 3'-terminal poli[A]).
- 3) Propiedades fisicoquímicas del virión, como masa molecular, densidad de flotación, estabilidad de pH, estabilidad térmica, y susceptibilidad a los agentes químicos y físicos, sobre todo al éter y a los detergentes.
- 4) Propiedades de las proteínas del virus, como número, tamaño y actividades funcionales de las proteínas estructurales y no estructurales, secuencia de aminoácidos, modificaciones (glucosilación, fosforilación, miristilación) y actividades funcionales especiales (transcriptasa, transcriptasa inversa, neuraminidasa, actividades de fusión).
- 5) Organización y replicación del genoma, que incluye orden de los genes, número y posición de los marcos de lectura abiertos, estrategia de replicación (patrones de transcripción, traducción), y sitios celulares (acumulación de proteínas, ensamble del virión, liberación del virión).
- 6) Propiedades antigénicas.
- 7) Propiedades biológicas, que incluyen variedad de huéspedes naturales, modo de transmisión, interrelaciones con el vector, patogenicidad, tropismos tisulares y patología.

Sistema universal de taxonomía de los virus

Se ha establecido un sistema en el cual los virus se separan en grupos de mayor tamaño —llamados familias— con base en la morfología del virión, estructura del genoma y estrategias de multiplicación. Los nombres de las familias de virus llevan el sufijo *-viridae*. El cuadro 29-1 presenta un esquema conveniente empleado para la clasificación. En la figura 29-4 se muestran algunos diagramas de familias de virus animales.

En cada familia, las subdivisiones (denominadas géneros) generalmente se basan en diferencias fisicoquímicas o serológicas. Los criterios utilizados para definir el género varían de una familia a otra. Los nombres de los géneros llevan el sufijo *-virus*. En cuatro familias (*Poxviridae*, *Herpesviridae*, *Parvoviridae*, *Paramyxoviridae*) se definen otros grupos denominados subfamilias, las cuales reflejan la complejidad de las interrelaciones entre los virus miembros de la familia. Los órdenes de los virus pueden usarse para agrupar familias de virus que comparten características comunes. En la actualidad sólo se ha definido un orden de virus: el de los *Mononegavirales*, que incluye las familias *Filoviridae*, *Paramyxoviridae* y *Rhabdoviridae*.

Hasta el año 2000, el *International Committee of Taxonomy of Viruses* había organizado más de 4 000 virus de animales y plantas en 56 familias, nueve subfamilias, 233 géneros y cientos de virus a los cuales todavía no se les

Cuadro 29-1. Familias de virus animales que tienen integrantes capaces de infectar humanos

Ácido nucleico central	Simetría de la cápside	Virión: envuelto o desnudo	Susceptibilidad al éter	Número de capsómeros	Tamaño de la partícula viral (nm) ¹	Tamaño del ácido nucleico del virión (kb/kpb)	Tipo físico del ácido nucleico ²	Familia viral
DNA	Icosaédrica	Desnudo	Resistente	32 72 72 252	18-26 40 55 70-90	5.6 5.2 6.8-8.4 26-45	ss ds circular ds circular ds	Parvoviridae Polyomaviridae Papillomaviridae Adenoviridae
RNA	Compleja	Envuelto	Susceptible	180 162	40-48 150-200	3.2 125-240	ds circular ³ ds	Hepadnaviridae Herpesviridae
	Icosaédrica	Desnudo	Resistente	32 32 132 ⁵	28-30 28-30 27-40 60-80	7.2-8.4 7.2-7.9 7.4-7.7 16-27	ss ss ss ds segmentado	Picornaviridae Astroviridae Caliciviridae Reoviridae
	Desconocida o compleja	Envuelto	Susceptible	42	50-70	9.7-11.8	ss	Togaviridae
	Helicoidal	Envuelto	Susceptible		40-60 50-300 120-160 80-100	9.5-12.5 10-14 27-32 7-11 ⁶	ss ss segmentado ss ss diploide	Flaviviridae Arenaviridae Coronaviridae Retroviridae
		Envuelto	Susceptible		80-120 80-120 80-125 75 x 180 150-300 80 x 1 000 ⁷	10-13.6 11-21 8.5-10.5 13-16 16-20 19.1	ss segmentado ss segmentado ss ss ss ss	Orthomyxoviridae Bunyaviridae Bornaviridae Rhabdoviridae Paramyxoviridae Filoviridae

¹ Diámetro o diámetro x longitud.

² ss = cadena única; ds = cadena doble.

³ La cadena en sentido negativo posee una longitud constante de 3.2 kb; la otra varía en longitud, dejando una amplia brecha en la cadena única.

⁴ El género Orthopoxvirus, que incluye los poxvirus mejor estudiados (p. ej., vacuna), es resistente al éter; algunos poxvirus pertenecientes a otros géneros son susceptibles al éter.

⁵ Los reovirus poseen una doble cubierta de proteínas en la cápside en la cual es difícil de determinar el número exacto y la disposición espacial de los capsómeros. Los rotavirus al parecer poseen 132 capsómeros.

⁶ Tamaño del monómero.

⁷ Las formas filamentosas varían mucho en longitud.

asigna grupo alguno. Actualmente 24 familias contienen virus que infectan al ser humano y a los animales.

En el cuadro 29-1 se presentan las propiedades de las principales familias de virus de animales que contienen miembros importantes en la patología humana. En capítulos subsiguientes se analizan brevemente y se consideran con mayor detalle.

Estudio de virus que contienen DNA

A. Parvovirus

Virus muy pequeño cuya partícula tiene un tamaño de 18 a 26 nm aproximadamente. Las partículas presentan simetría cúbica, con 32 capsómeros, pero carecen de envoltura. El genoma es lineal, con una sola cadena de DNA y 5.6 kb de tamaño. La replicación sólo tiene lugar en las células en división activa, y el ensamblado de la cápside se presenta en el núcleo de la célula infectada. Muchos parvovirus se reproducen de manera autónoma, pero los virus satélites adenoasociados son defectuosos y requieren de adenovirus o herpesvirus como "cooperador". El parvovirus humano B19 se reproduce en las células eritroides inmaduras y produce varias consecuencias adversas, que incluyen crisis aplásica, la quinta enfermedad y muerte fetal (véanse capítulos 31 y 32).

B. Poliomavirus

Virus pequeños (40 nm) carentes de envoltura, termoestables, resistentes al éter y que muestran simetría cúbica con 72 capsómeros. El genoma es circular con DNA de cadena doble, de 5 kpb de tamaño. Estos agentes presentan un ciclo de crecimiento lento, estimulan la síntesis del DNA celular y se reproducen en el núcleo. Los poliomavirus humanos conocidos son virus JC, el agente causante de leucoencefalopatía multifocal progresiva y virus BK, relacionado con nefropatía en receptores de trasplante. SV40 también infecta a los humanos y ha sido recuperado de tumores humanos. La mayor parte de las especies animales alberga uno o más poliomavirus. Éstos producen infección crónica y latente en sus huéspedes naturales, y todos pueden inducir tumores en algunas especies de animales. Los poliomavirus anteriormente eran parte de la familia *Papovaviridae*, antes de que se dividiera en dos familias (véanse capítulos 42 y 43).

C. Papilomavirus

También un miembro anterior de la familia *Papovaviridae*. Similar a los poliomavirus en muchos aspectos, pero con un genoma (6.8 a 8.4 kpb) y tamaño de partícula más grandes (55 nm). Hay muchos genotipos de papilomavirus humanos, también conocidos como virus "verruca"; ciertos tipos son causantes de cánceres genitales en humanos. Los papilomavirus son muy específicos en cuanto al huésped y el tejido. Muchas especies animales llevan papilomavirus (véanse capítulos 42 y 43).

D. Adenovirus

Virus de tamaño intermedio (70 a 90 nm) carentes de envoltura y que muestran simetría cúbica con 252 capsómeros. Del vértice del capsómero sobresalen algunas fibras. El genoma es lineal, con DNA de doble cadena, de 26 a 45 kpb

de tamaño. La replicación tiene lugar en el núcleo. Patrones complejos de empalme (*splicing*) producen diversos mRNA. Se pueden encontrar al menos 47 tipos de virus que infectan al hombre, especialmente en las mucosas, y algunos tipos pueden persistir en el tejido linfoide. Otros adenovirus causan infección respiratoria aguda, conjuntivitis y gastroenteritis. Algunos adenovirus humanos pueden inducir tumores en cobayos recién nacidos. Existen muchos serotipos que infectan animales (véanse capítulos 32 y 43).

E. Hepadnavirus

Virus pequeños (40 a 48 nm) con moléculas de DNA de doble cadena circular y de 3.2 kpb de tamaño. El DNA viral contiene un tramo de cadena sencilla en las partículas. El virión contiene una polimerasa DNA capaz de convertir las cadenas en moléculas de doble cadena íntegramente. La replicación implica la reparación del tramo de cadena simple en el DNA, transcripción del RNA y transcripción inversa del RNA para formar el DNA genómico. El virus consta de una nucleocápside central icosaédrica de 27 nm dentro de una envoltura que contiene lípidos y se encuentra estrechamente adherida a la superficie antigénica viral. Por lo general, la proteína de la superficie se produce en exceso durante la replicación del virus, que tiene lugar en el hígado, y se desprenden hacia el torrente sanguíneo. Los hepadnavirus causan hepatitis crónica y aguda; las infecciones persistentes se acompañan de un alto riesgo para desarrollar cáncer hepático. Se conocen tres tipos de virus que infectan a mamíferos (humanos, marmotas y ardillas terrestres) y otros infectan a los patos (véase capítulo 35).

F. Herpesvirus

Es una extensa familia de virus de 150 a 200 nm de diámetro. La nucleocápside tiene 100 nm de diámetro, con simetría cúbica y 162 capsómeros, rodeada por una envoltura que contiene lípidos. El genoma es un DNA lineal de doble cadena, de 125 a más de 240 kpb de tamaño. La presencia de secuencias terminales e internas repetidas produce varias formas isoméricas del DNA genómico. El virión contiene más de 30 proteínas. La infección latente puede persistir durante toda la vida del huésped, generalmente en las células ganglionares o en las linfoblastoides. Los herpesvirus humanos incluyen el herpes simple tipos 1 y 2 (lesiones bucales y genitales), virus varicela zoster (varicela y herpes), citomegalovirus, virus de Epstein-Barr (mononucleosis infecciosa y relacionado con neoplasias humanas), herpesvirus humanos 6 y 7 (linfotrópico T) y herpesvirus humano 8 (vinculado con sarcoma de Kaposi). Otros herpesvirus se encuentran en diferentes animales (véanse capítulos 33 y 43).

G. Poxvirus

Virus grandes con formas de ladrillo u ovoide de 220 a 450 nm de longitud $\times$ 140 a 260 nm de ancho $\times$ 140 a 260 nm de espesor. La estructura de la partícula es compleja, con una envoltura que contiene lípidos. El genoma es un DNA lineal de doble cadena cerrado mediante unión covalente, y de 130 a 375 kpb de longitud. Las partículas poxvirus contienen casi 100 proteínas, las cuales incluyen muchas con actividades enzimáticas, como la RNA polimerasa dependiente del DNA. La replicación tiene lugar por completo dentro del citoplasma celular. Todos los poxvirus tienden a

producir lesiones cutáneas. Algunos son patógenos para humanos (viruela, vaccinia, molusco contagioso); otros, patógenos para animales, pueden infectar al ser humano (viruela bovina, viruela de mono (véase capítulo 34).

Estudio de virus que contienen RNA

A. Picornavirus

Virus pequeños (28 a 30 nm) resistentes al éter. presentan simetría cúbica. El genoma de RNA es una cadena simple en sentido positivo (es decir, puede servir como mRNA), y su tamaño es de 7.2 a 8.4 kb. Los grupos que infectan al ser humano son enterovirus (polio-, coxsackie-, echovirus y virus no clasificados), rinovirus (más de 100 serotipos causantes del catarro común) y hepatovirus (hepatitis A). Los rinovirus son lábiles en medio ácido y tienen una gran densidad; los enterovirus son estables en medio ácido y muestran menor densidad. Los picornavirus que infectan animales incluyen la enfermedad de boca y pie del ganado vacuno y la encefalomiocarditis de los roedores (véase capítulo 36).

B. Astrovirus

Similares en tamaño a los picornavirus (28 a 30 nm), pero las partículas pueden mostrar un diseño peculiar en forma de estrella sobre su superficie. El genoma es un RNA de cadena sencilla, lineal, en sentido positivo, y de 7.2 a 7.9 kb. Estos agentes se relacionan con gastroenteritis en el ser humano y en los animales (véase capítulo 37).

C. Calicivirus

Similares a los picornavirus, pero un poco más grandes (27 a 40 nm). Las partículas presentan depresiones en forma de copa sobre su superficie. El genoma es un RNA de una sola cadena en sentido positivo, y de 7.4 a 7.7 kb de tamaño; el virión no posee envoltura. Un patógeno humano importante es el virus Norwalk, que causa gastroenteritis epidémica aguda. Otros agentes infectan gatos y leones marinos, así como primates (véase capítulo 37).

D. Reovirus

Virus de tamaño intermedio (60 a 80 nm), resistentes a éter, sin envoltura y con simetría icosaédrica. Las partículas tienen 2 o 3 cubiertas proteínicas con conductos extendidos desde la superficie hasta el centro; espinas cortas prolongadas a partir de la superficie del virión. El genoma es un RNA segmentado, lineal, de doble cadena, cuya longitud total es 16 a 27 kpb. Los segmentos individuales del RNA varían de tamaño desde 680 hasta 3 900 pb. La replicación ocurre en el citoplasma; el reacomodo de los segmentos del genoma sucede con rapidez. Los reovirus de humanos incluyen los rotavirus, con un aspecto distintivo en forma de rueda de carreta, causantes de gastroenteritis. Reovirus antígenicamente similares infectan a muchos animales. El género *Coltivirus* incluye el virus de los humanos causante de la fiebre por garrapata de Colorado (véase capítulo 37).

E. Arbovirus

Un grupo ecológico de virus con diversas propiedades físicas y químicas. Todos estos virus (hay más de 350) poseen un ciclo complejo que implica como vectores a los artrópodos,

los cuales transmiten el virus a los huéspedes vertebrados a través de sus picaduras. La replicación viral no parece dañar al artrópodo infectado. Los arbovirus infectan a humanos, mamíferos, pájaros y serpientes, y utilizan como vectores mosquitos y garrapatas. Los patógenos humanos incluyen los virus del dengue, de la encefalitis, de la fiebre amarilla y otros. Los arbovirus pertenecen a varias familias que incluyen a los virus toga-, flavi-, bunya-, rabdo-, arena- y reovirus (véase capítulo 38).

F. Togavirus

A este grupo pertenecen muchos arbovirus que son patógenos importantes para el humano, denominados alfavirus —así como también el virus de la rubéola—. Poseen una envoltura con lípidos y son sensibles al éter; su genoma es un RNA de una sola cadena en sentido positivo y 9.7 a 11.8 kb de tamaño. El virión cubierto mide 50 a 70 nm. Las partículas virales maduran por gemación a partir de las membranas celulares. Un ejemplo es el virus de la encefalitis equina oriental. El virus de la rubéola no tiene vector artrópodo (véanse capítulos 38 y 40).

G. Flavivirus

Virus con envoltura de 45 a 60 nm de diámetro con una sola cadena de RNA en sentido positivo. El tamaño del genoma varía de 9.5 kb (hepatitis C) a 10.7 kb (flavivirus) a 12.5 kb (pestivirus). Los viriones maduros se acumulan en las cisternas del retículo endoplásmico. Este grupo de arbovirus incluye el virus de la fiebre amarilla y el del dengue. La mayor parte de sus miembros se transmite a través de artrópodos hematófagos. El virus de la hepatitis C no tiene vector conocido (véanse capítulos 35 y 38).

H. Arenavirus

Virus pleomórficos con envoltura, cuyo tamaño varía de 50 a 300 nm. El genoma es de cadena sencilla de RNA, segmentada, circular (en sentido negativo y en ambos sentidos), de 10 a 14 kb de longitud total. La replicación se presenta en el citoplasma con ensamblado a través de gemación sobre la membrana plasmática. Los viriones se incorporan al ribosoma de la célula del huésped durante su maduración, esto confiere a las partículas un aspecto "arenoso". Casi todos los miembros de esta familia sólo se encuentran en la porción tropical de América (o sea, el complejo Tacaribe). Todos los arenavirus patógenos para el humano causan infecciones crónicas en los roedores. El virus de la fiebre de Lassa de África es un ejemplo. Estos virus requieren condiciones de máxima seguridad en el laboratorio (véase capítulo 38).

I. Coronavirus

Partículas de 80 a 220 nm, que poseen envoltura y contienen un genoma no segmentado de una sola cadena de RNA en sentido positivo con 20 a 30 kb de longitud; la nucleocápside es helicoidal, de 10 a 20 nm de diámetro. Los coronavirus se asemejan a los ortomixovirus, pero poseen prolongaciones en forma de pétalo en su superficie dispuestas en un reborde parecido a una corona solar. En los coronavirus la nucleocápside se desarrolla en el citoplasma y madura por gemación en las vesículas citoplásmicas. Estos virus poseen una variedad escasa de huéspedes. La mayor

parte de los coronavirus humanos causan enfermedades de leves a agudas del tracto respiratorio superior—"resfriados"—pero un nuevo coronavirus identificado en 2003 causa el síndrome respiratorio agudo severo (SARS, del inglés *severe acute respiratory syndrome*). Los torovirus, que causan gastroenteritis, forman un género distinto. Los coronavirus de animales producen infecciones persistentes; incluyen el virus de la hepatitis murina y el virus de la bronquitis infecciosa aviar (véase capítulo 41).

J. Retrovirus

Virus esféricos envueltos (80 a 100 nm de diámetro) cuyo genoma contiene dos copias de una cadena sola de RNA, lineal en sentido positivo y de la misma polaridad del mRNA viral. Cada monómero del RNA tiene DE 7 a 11 kb de largo. Las partículas contienen una nucleocápside helicoidal dentro de una cápside icosaédrica. La duplicación es peculiar: el virión contiene una enzima transcriptasa inversa que produce una copia de DNA a partir del genoma de RNA. Este DNA forma un círculo y se integra al DNA cromosómico huésped. Enseguida, el virus se replica a partir de la copia de DNA integrada, "provirus". El ensamblado del virión tiene lugar por gemación sobre la membrana plasmática. El huésped permanece crónicamente infectado. Los retrovirus están ampliamente distribuidos en la mayor parte de las especies; existen también provirus endógenos como resultado de antiguas infecciones de las células germinales transmitidas a genes heredados. En este grupo se incluyen los virus de la leucemia y del sarcoma de animales y humanos (véase capítulo 43), virus espinosos de los primates y lentivirus (virus de la inmunodeficiencia humana: visna de la oveja; véanse capítulos 42 y 44). Los retrovirus producen el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA; véase capítulo 44) y hacen posible la identificación de oncogenes celulares (véase capítulo 43).

K. Ortomixovirus

Virus de tamaño mediano, de 80 a 120 nm, provistos de envoltura y con simetría helicoidal. Las partículas pueden ser esféricas o filamentosas, con prolongaciones superficiales que contienen hemaglutinina o actividad de neuraminidasa. El genoma es una cadena sencilla de RNA lineal, segmentada, en sentido negativo, con dimensión total de 10 a 13.6 kb. Los segmentos varían de 900 a 2 350 nucleótidos cada uno. La hélice interna de nucleoproteína mide de 9 a 15 nm. Durante la replicación, la nucleocápside se ensambla en el núcleo; mientras, se acumulan en el citoplasma hemaglutinina y neuraminidasa. El virus madura por gemación en la membrana celular. Todos los orantomixovirus son virus de la influenza que infectan al humano o a los animales. La naturaleza segmentada de este genoma viral permite una fácil reconstitución genética cuando dos virus de la influenza infectan la misma célula; esto presumiblemente explica la elevada tasa de variaciones naturales entre estos virus. Se considera la transmisión interespecies para explicar el surgimiento de nuevas cepas humanas de virus influenza A causantes de pandemias (véase capítulo 39).

L. Bunyavirus

Partículas cubiertas, esféricas o pleomórficas, de 80 a 120 nm. El genoma está formado por una cadena sola de RNA

en sentido negativo o en ambos sentidos, y triplemente segmentada; el tamaño total es de 11 a 21 kbp. Los viriones contienen tres nucleocápsides circulares simétricamente helicoidales de casi 2.5 nm de diámetro y de 200 a 3 000 nm de longitud. Se reproducen en el citoplasma y su envoltura se forma por gemación en el sistema Golgi. La mayor parte de estos virus se transmiten a los vertebrados mediante artrópodos (arbovirus). Los hantavirus no se transmiten por artrópodos, sino por roedores crónicamente infectados a través de aerosoles de las excretas contaminadas. Causan fiebres hemorrágicas y nefropatía, y también un síndrome pulmonar grave (véase capítulo 38).

M. Bornavirus

Son virus esféricos (80 a 125 nm) con envoltura. El genoma es lineal, de cadena sencilla, no segmentado, con RNA en sentido negativo de 8.5 a 10.5 kb de tamaño. La replicación y la transcripción del genoma viral de los bornavirus se llevan a cabo en el núcleo. El virus de la enfermedad de Borna es neurotrópico en animales; no está demostrada la relación postulada con trastornos neuropsiquiátricos de los humanos (véase capítulo 42).

N. Rabdovirus

Viriones cubiertos que recuerdan una bala, aplanados en un extremo y redondeados en el otro, miden casi 75 × 180 nm. La envoltura tiene espigas de 10 nm. El genoma es de cadena sencilla de RNA, lineal no segmentada, en sentido negativo, de 13 a 16 kb de longitud. Las partículas se forman por gemación a partir de la membrana celular. Estos virus tienen una amplia variedad de huéspedes. El virus de la rabia es miembro de este grupo (véase capítulo 42).

O. Paramixovirus

Similares a los orantomixovirus, pero de mayor tamaño (150 a 300 nm). Las partículas son pleomórficas. La nucleocápside interna mide de 13 a 18 nm, y la cadena sencilla lineal no segmentada de RNA tiene sentido negativo y mide de 16 a 20 kb de longitud. Tanto la nucleocápside como la hemaglutinina se forman en el citoplasma. Los virus que infectan al ser humano incluyen los de la parotiditis, sarampión, parainfluenza y el respiratorio sincitial. Estos virus tienen una reducida variedad de huéspedes. A diferencia de los virus de la influenza, los paramixovirus son genéticamente estables (véase capítulo 40).

P. Filovirus

Virus pleomórficos con envoltura, que a veces parecen fibras alargadas. Por lo regular presentan 80 nm de ancho y casi 1 000 nm de largo. La envoltura contiene grandes peplomeros. El genoma es de cadena sencilla de RNA, lineal en sentido negativo, de 19.1 kb de longitud. En África, los virus Marburg y Ébola causan fiebre hemorrágica grave. Estos virus requieren máximas condiciones de seguridad (nivel IV de bioseguridad) para su manejo (véase capítulo 38).

Q. Otros virus

No hay información suficiente para establecer una clasificación. Esto se aplica al virus de la hepatitis E (véase capítulo 35), a algunos virus de gastroenteritis (véase capítulo 37) y a los agentes causantes de enfermedades virales "lentas" o no convencionales, que incluyen a las enfermedades

neurológicas degenerativas como el kuru, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob o la encefalitis espongiforme (*scrapie*) de las ovejas (véase capítulo 42).

R. Viroides

Agentes infecciosos pequeños causantes de enfermedades en las plantas. Los viroides son agentes que no satisfacen la definición de virus clásico. Son moléculas de ácido nucleico (PM 70 000 a 120 000) sin cubierta de proteína. Los viroides de plantas son moléculas de RNA de cadena sencilla, cerradas circularmente mediante uniones covalentes formadas por casi 360 nucleótidos y con una estructura semejante a bastón con gran número de pares de bases. Los viroides se reproducen por un mecanismo novedoso. El RNA del viroide no codifica producto proteínico alguno; las devastadoras enfermedades de las plantas inducidas por los viroides tienen lugar por un mecanismo desconocido. Hasta la fecha sólo se han detectado viroides en plantas; no se ha demostrado su existencia en animales o humanos.

S. Priones

Partículas infecciosas compuestas sólo de proteína sin ningún ácido nucleico detectable. Muy resistentes a la desactivación por calor, formaldehído y luz ultravioleta que desactiva a los virus. Un solo gen celular codifica a la proteína priónica. Las enfermedades priónicas, llamadas "encefalopatías espongiformes transmisibles", incluyen al *scrapie* en las ovejas, la enfermedad de las vacas locas en el ganado, y el kuru y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en los humanos. Los priones no parecen ser virus (véase capítulo 42).

PRINCIPIOS DE LA ESTRUCTURA VIRAL

Los virus presentan muchas formas y tamaños. La información estructural es necesaria para establecer la clasificación de los virus y para definir las interrelaciones estructura-función de las proteínas virales. Las características estructurales particulares de cada familia de virus se determinan mediante las funciones del virión: morfogénesis y liberación a partir de células infectadas, transmisión a huéspedes nuevos, y adhesión, penetración y pérdida de la cubierta en las células recientemente infectadas. Conocer la estructura del virus incrementa el conocimiento del mecanismo de ciertos procesos, como la interacción de partículas virales con receptores de la superficie celular y anticuerpos neutralizantes. También puede conducir al diseño razonado de fármacos antivirales capaces de impedir la adhesión del virus, la pérdida de su cubierta o el ensamblado de éste en células susceptibles.

Tipos de simetría de las partículas virales

El microscopio electrónico, la microscopía electrónica por criograbado y las técnicas de difracción de rayos X permiten la determinación de diferencias finas en la morfología básica de los virus. El estudio de la simetría viral mediante

microscopía electrónica estándar requiere del uso de colorantes a base de metales pesados (p. ej., fosforotungstato de potasio) para resaltar las estructuras de la superficie. El metal pesado permea la partícula viral igual que una sombra y muestra la estructura de la superficie del virus gracias a la "tinción negativa". El valor típico de resolución es 3 a 4 nm. (Las dimensiones de una doble hélice del DNA son 2 nm.) Sin embargo, los métodos convencionales para preparar la muestra con frecuencia deforman y cambian la morfología de la partícula. La microscopía electrónica por criograbado emplea muestras de virus congelados en hielo cristalino con métodos rápidos, para conservar así los rasgos estructurales finos y evitar el uso de tinción negativa. Con el empleo de procedimientos para el procesamiento de la imagen por computadora se puede lograr información estructural tridimensional.

La cristalografía de rayos X puede suministrar información a nivel de resolución atómica, generalmente de 0.2 a 0.3 nm. No obstante, la muestra debe ser cristalina, y esto sólo se ha logrado con virus pequeños desprovistos de envoltura. Sin embargo, es posible obtener datos estructurales con gran resolución de subestructuras bien definidas preparadas a partir de virus más complejos.

La economía genética requiere que la estructura viral se forme con muchas moléculas idénticas de una o unas cuantas proteínas. La arquitectura viral se puede agrupar en tres tipos con base en el arreglo de las subunidades morfológicas: 1) con simetría cúbica, por ejemplo, adenovirus; 2) con simetría helicoidal, como ortomixovirus; y 3) con estructuras complejas, por ejemplo, poxvirus.

A. Simetría cúbica

Toda la simetría cúbica observada en los virus animales es de patrón icosaédrico, el arreglo más eficiente para subunidades dentro de una cubierta cerrada. El icosaedro posee 20 caras (cada una es un triángulo equilátero), 12 vértices y ejes quintuple, triple y doble de simetría rotacional. Los vértices de las unidades tienen cinco vecinos (pentavalente), y todas las otras unidades poseen seis (hexavalentes).

Exactamente hay 60 subunidades idénticas sobre la superficie de un icosaedro. Para construir una partícula del tamaño adecuado para encerrar el genoma viral, las cubiertas virales se componen de múltiplos de 60 unidades estructurales. Cuando se emplean cantidades mayores de subunidades proteínicas químicamente idénticas, se cumplen las reglas de la simetría icosaédrica gracias a una subtriangulación de cada cara de un icosaedro. Este concepto se ilustra en la figura 29-2.

La mayor parte de los virus que poseen simetría icosaédrica no tienen forma de icosaedro; el aspecto físico de la partícula es más bien esférico.

El ácido nucleico viral se condensa en partículas isométricas: las proteínas "centrales" codificadas por el virus, o, en el caso del poliovirus y del papilomavirus, las histonas celulares, participan para la condensación del ácido nucleico en una forma adecuada para su empaquetamiento. Las "secuencias de empaquetamiento" en el ácido nucleico viral tienen que ver con el ensamblaje en partículas de virus. Las moléculas de ácido nucleico que pueden empaquetarse en una determinada cápside icosaédrica están sujetas a

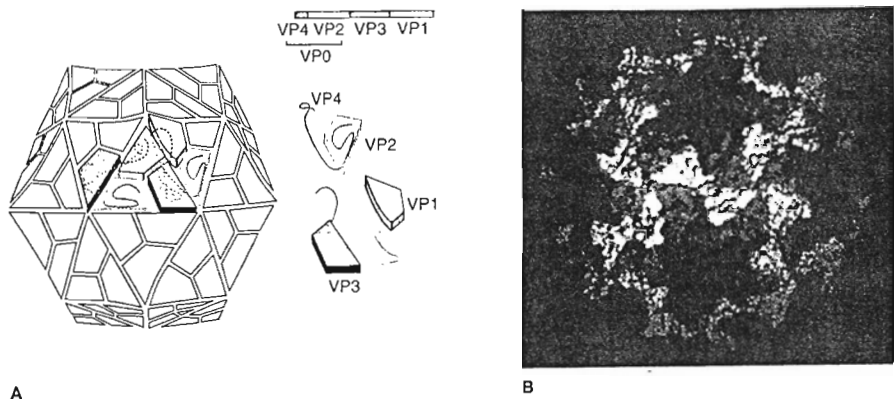


Figura 29-2. A: perspectiva del empaquetamiento de las subunidades en el picornavirus. Las proteínas se desdoblaron a partir de un precursor, como se muestra. VP1 a VP3 están representados por bloques cuneiformes (dominio β barril de la cápside viral) con prolongaciones terminales amino y carboxilo. La prolongación aminoterminal de VP0. En el poliovirus y el rinovirus el GH prominente del asa VP1 se sitúa a través de VP2 y VP3 según se muestra. **A la derecha aparece una vista de un protómero "estallado". B:** vista de la superficie del poliovirus en la misma orientación que en A. (Reproducido con permiso de Harrison SC, Skehel JJ, Wiley DC: Virus structure. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

limitaciones de tamaño. Las cápsides icosaédricas se forman independientemente del ácido nucleico. La mayor parte de las preparaciones de virus isométricos contiene algunas partículas "vacías" desprovistas de ácido nucleico viral. Tanto los grupos virales de DNA como los de RNA muestran ejemplos de simetría cúbica.

B. Simetría helicoidal

En el caso de la simetría helicoidal, las subunidades de proteína se unen periódicamente al ácido nucleico viral, formando una hélice. El complejo ácido nucleico viral filamentos-proteína (nucleocápside) a continuación se enrolla dentro de una envoltura que contiene lípidos. Por tanto, a diferencia del caso de la estructura icosaédrica, en los virus con simetría helicoidal hay interacción periódica regular entre las proteínas de la cápside y el ácido nucleico. No es posible la formación de partículas helicoidales "vacías".

En la figura 29-3 se muestra un ejemplo de simetría helicoidal. El virus del mosaico del tabaco (un virus de las plantas) es un cilindro rígido. Todos los ejemplos conocidos de virus animales con simetría helicoidal contienen genomas de RNA y, excepto los rhabdovirus, poseen nucleocápsides flexibles enrolladas en forma de esfera dentro de la envoltura (figuras 29-4 y 29-4).

C. Estructuras complejas

Algunas partículas de virus no muestran simetría simple cúbica o helicoidal, sino que presentan una estructura más complicada. Por ejemplo, los poxvirus tiene forma de ladrillo con crestas sobre la superficie externa y corpúsculos centrales y laterales en su interior (figuras 29-4 y 34-1).

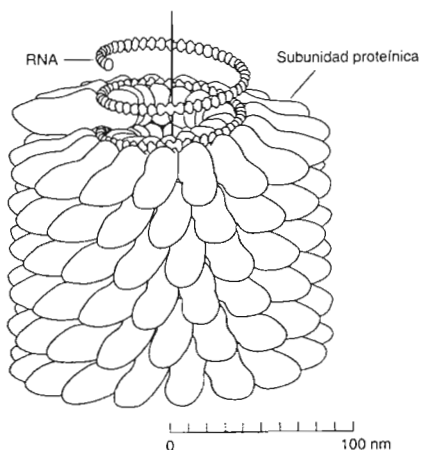


Figura 29-3. Representación esquemática del virus del mosaico del tabaco. Como se puede ver en la sección transversal, la hélice de RNA se acompaña de moléculas de proteína en proporción de tres nucleótidos por molécula de proteína. (Reproducido con permiso de Mattern CFT: Structure. In: *Medical Microbiology*. Baron S [editor]. Addison-Wesley, 1986. Modified from Caspar DLD: *Adv Protein Chem* 1963;18:37.)

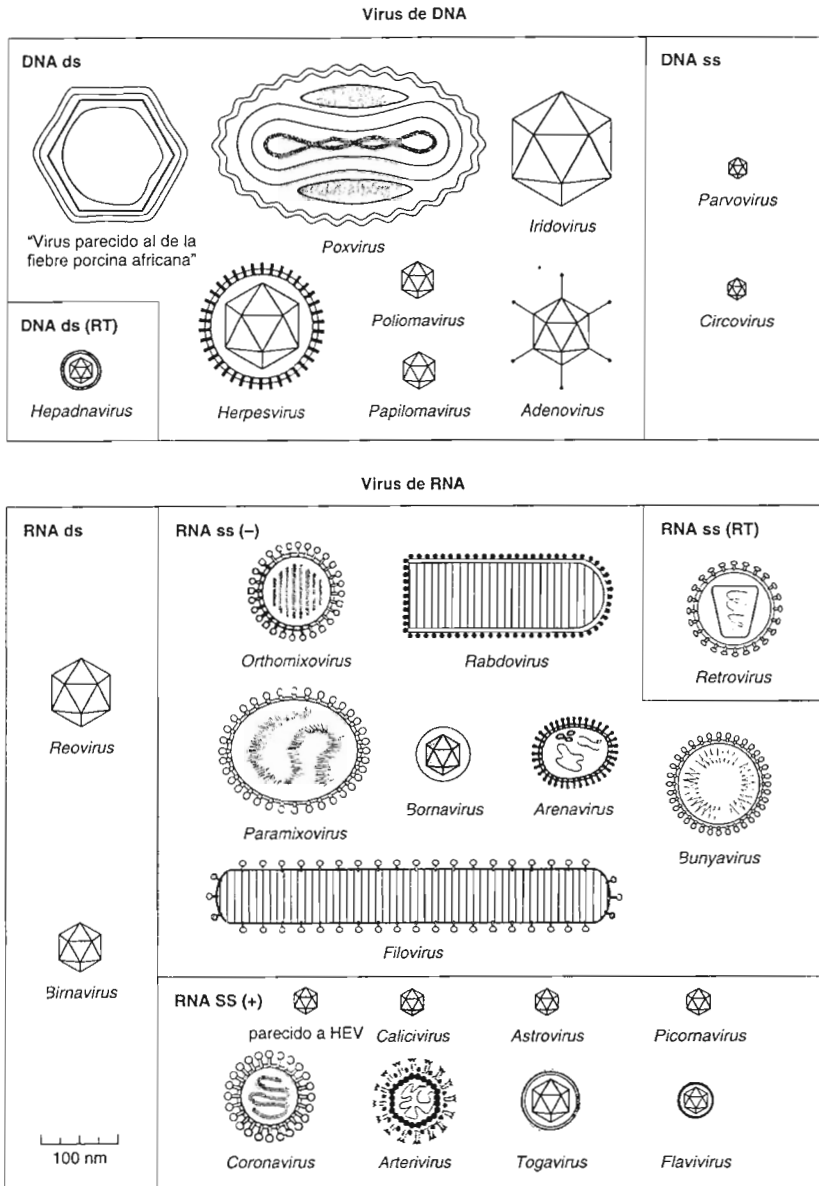


Figura 29-4. Formas y tamaños relativos de familias de virus animales que infectan vertebrados. En algunos diagramas se representan ciertas estructuras internas de las partículas. En el cuadro 29-1 sólo se mencionan las familias que incluyen patógenos humanos descritos en el texto. (Reproducido con permiso de van Regenmortel M-HV *et al.* [editors]: Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, 2000.)

Medición del tamaño de los virus

Los atributos típicos de los virus son su tamaño pequeño y la capacidad para pasar a través de los filtros que retienen a las bacterias. Sin embargo, puesto que algunas bacterias pueden ser más pequeñas que los virus de mayor tamaño, en la actualidad ya no se considera la filtrabilidad como característica peculiar de los virus.

Para determinar el tamaño de los virus y sus componentes se emplean los métodos siguientes:

A. Observación directa con el microscopio electrónico

El microscopio electrónico, comparado con el microscopio de luz, emplea electrones y no ondas luminosas, y lentes electromagnéticas en lugar de lentes de cristal. El rayo de electrones tiene una longitud de onda mucho más corta que la correspondiente a la luz visible, de modo que se puedan observar objetos mucho más pequeños que la longitud de onda de la luz visible o de la luz ultravioleta. Los virus se pueden observar en preparaciones de extractos de tejido y en cortes ultradelgados de células infectadas. La microscopía electrónica es el método más utilizado para estimar el tamaño de la partícula.

B. Sedimentación en la ultracentrífuga

Si las partículas se encuentran suspendidas en un líquido se asientan en el fondo con una tasa proporcional a su tamaño. Una ultracentrífuga puede generar fuerzas mayores de 100 000 veces la fuerza de gravedad para dirigir las partículas al fondo del tubo. La interrelación entre tamaño y forma de una partícula y su velocidad de sedimentación permiten determinar el tamaño de la partícula. Una vez más, la estructura física del virus afecta la estimación del tamaño obtenido.

C. Mediciones comparativas (cuadro 29-1)

Los siguientes datos deben recordarse como referencia: 1) El estafilococo tiene un diámetro de casi 1 000 nm. 2) Los virus de bacterias (bacteriófagos) son de tamaño variable (10 a 100 nm). Algunos son esféricos o hexagonales y poseen apéndices cortos o largos. 3) El diámetro de las moléculas representativas de proteína varía desde 5 nm (albúmina del suero) y 7 nm (globulina) hasta 23 nm (ciertas hemocianinas).

En la figura 29-4 se muestra el tamaño relativo y la morfología de varias familias de virus. Partículas con diferencia de 2 veces en su diámetro presentan una diferencia de 8 veces en su volumen. Así, la masa de un poxvirus es casi mil veces mayor que la de una partícula de poliovirus, y la masa de una bacteria pequeña es 50 000 veces mayor.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS VIRUS

Proteínas virales

Las proteínas estructurales de los virus desempeñan varias funciones importantes. La principal es facilitar la transferencia del ácido nucleico viral de una célula huésped a otra.

Sirven para proteger el genoma viral contra la inactivación por nucleasas, participan en la adhesión de la partícula viral a una célula susceptible, y confieren simetría estructural a la partícula del virus.

Las proteínas determinan las características antigénicas del virus. La respuesta inmunoprotectora del huésped se orienta contra los determinantes antigénicos de proteínas o glucoproteínas expuestas sobre la superficie de la partícula viral. Algunas proteínas de la superficie también pueden mostrar actividades específicas, por ejemplo, la hemaglutinina del virus de la influenza aglutina los eritrocitos.

Algunos virus contienen enzimas (que son proteínas) dentro del virión. Las enzimas se presentan en cantidades muy pequeñas y probablemente no son importantes para la estructura de la partícula viral; sin embargo, son indispensables para iniciar el ciclo replicativo viral cuando el virión penetra en la célula huésped. Los ejemplos incluyen una enzima RNA polimerasa de los virus con genoma de RNA de sentido negativo (p. ej., ortomixovirus, rabdovirus) necesaria para copiar el primer mRNA, y la transcriptasa inversa, una enzima de los retrovirus que copia el DNA a partir del RNA viral, paso indispensable para la replicación y transformación. Los poxvirus constituyen un ejemplo extremo en relación con esto porque contienen en su centro un sistema de transcripción: en las partículas poxvirus se encuentran concentradas muchas enzimas diferentes.

Ácido nucleico viral

Los virus contienen un solo tipo de ácido nucleico, sea DNA o RNA, que codifica la información genética necesaria para la replicación del virus. El genoma puede ser de cadena sencilla o doble, circular o lineal, y segmentada o no segmentada. El tipo de ácido nucleico, la cadena y el tamaño de ésta son las características principales que se utilizan para clasificar los virus en familias (cuadro 29-1).

El tamaño del genoma viral de DNA varía de 3.2 kbp (hepadnavirus) a 375 kbp (poxvirus). El tamaño del genoma viral de RNA varía de casi 7 kb (algunos picornavirus y astrovirus) a 30 kb (coronavirus).

Los grupos virales principales de DNA del cuadro 29-1 tienen genomas que son moléculas únicas de DNA y muestran una configuración lineal o circular.

El RNA viral existe en varias formas. Puede ser una sola molécula lineal (p. ej., picornavirus). En otros virus (p. ej., ortomixovirus), el genoma consta de varios segmentos de RNA que pueden unirse laxamente en el virión. El RNA aislado de los virus con genoma en sentido positivo (p. ej., picornavirus, togavirus) es infectante, y la molécula funciona como un mRNA dentro de la célula infectada. El RNA aislado de los virus de RNA de sentido negativo, como rabdovirus y ortomixovirus, no es infectante. En estas familias virales los viriones contienen una RNA polimerasa, la cual dentro de la célula transcribe las moléculas del genoma de RNA en varias moléculas de RNA complementarias y cada una puede servir como mRNA.

La secuencia y la composición de los nucleótidos de cada ácido nucleico viral son distintivas. Se han secuenciado muchos genomas virales. Las secuencias pueden revelar

relación genética entre los diversos aislados, incluyendo vínculos inesperados entre virus de los cuales no se pensaba estuvieran relacionados de manera tan estrecha. Se puede estimar el número de genes en un virus a partir de los marcos de lectura abiertos, deducidos de la secuencia del ácido nucleico.

El ácido nucleico viral se puede caracterizar por su contenido G + C. Los genomas virales de DNA se pueden analizar y comparar utilizando endonucleasas de restricción, enzimas que escinden el DNA en secuencias específicas de nucleótidos. Cada genoma produce un patrón característico de fragmentos de DNA después de la escisión con una enzima particular. Con el uso de copias del DNA clonadas a partir del RNA también se pueden derivar mapas de restricción de los genomas virales de RNA. Los análisis con la reacción en cadena de la polimerasa y con técnicas de hibridación molecular (DNA a DNA, DNA a RNA o RNA a RNA) permiten estudiar la transcripción del genoma viral dentro de la célula infectada y también comparar el parentesco de diferentes virus.

Envoltura lipídica de los virus

Algunos virus diferentes contienen envolturas lipídicas como parte de su estructura (p. ej., el virus Sindbis; figura 29-5). La nucleocápside viral adquiere los lípidos cuando sufre gemación a través de una membrana celular en el curso de su maduración. La gemación sólo se presenta en sitios donde se han introducido proteínas específicas del virus en la membrana de la célula huésped. El proceso de gema-

ción varía notablemente según la estrategia de multiplicación del virus y la estructura de la nucleocápside. En la figura 29-6 se comparan dos mecanismos diferentes.

La composición fosfolipídica específica de la envoltura de un virión está determinada por el tipo específico de membrana celular implicada en el proceso de gemación. Por ejemplo, el herpesvirus pasa a través de la membrana nuclear de la célula huésped y la composición fosfolipídica de los virus purificados refleja los lípidos de la membrana nuclear. En algunos grupos virales la adquisición de una membrana con lípidos es un paso integral de la morfogénesis del virión (véase adelante Reproducción de virus).

Siempre hay proteínas virales glucosiladas que sobresalen de la envoltura y están expuestas sobre la superficie externa de la partícula viral. Existen proteínas no glucosiladas de origen viral por debajo de la envoltura, las cuales mantienen unida a la partícula.

Los virus que contienen lípidos son sensibles al tratamiento con éter y otros solventes orgánicos (cuadro 29-1), lo cual indica que la fragmentación o pérdida de los lípidos causa pérdida de la infectiosidad. Los virus sin lípidos en general son resistentes al éter.

Glucoproteínas virales

Las envolturas virales contienen glucoproteínas. En contraste con los lípidos de las membranas virales, derivados de la célula huésped, las glucoproteínas de la envoltura son codificadas por el virus. Sin embargo, los azúcares añadidos a las glucoproteínas virales con frecuencia reflejan los de la célula huésped donde crece el virus.

Las glucoproteínas de la superficie de una envoltura viral adhieren la partícula viral a una célula específica mediante la interacción con un receptor celular. Con frecuencia, también se les implica en la etapa de fusión con la membrana durante la infección. Además, las glucoproteínas son importantes antígenos virales. Como consecuencia de su posición en la superficie exterior del virión, casi siempre participan en la interacción de la partícula viral con el anticuerpo neutralizante. La glucosilación extensa podría evitar la neutralización efectiva de una partícula de virus mediante un anticuerpo específico. La estructura tridimensional de la región externa expuesta de las dos glucoproteínas de la membrana del virus de la influenza (hemaglutinina, neuraminidasa) se determinó mediante cristalografía de rayos X (véase figura 39-2). Estos estudios suministran conocimientos acerca de la estructura antigénica y de las actividades funcionales de las glucoproteínas virales.

CULTIVO Y ANÁLISIS DE LOS VIRUS

Cultivo de los virus

Muchos virus pueden crecer en cultivo de células o en huevos fertilizados bajo condiciones estrictamente controladas. Todavía se emplea el crecimiento de virus en animales para aislamiento primario de ciertos virus y para estudiar la patogenicidad de las enfermedades virales y la oncogénesis viral. En el laboratorio de diagnóstico se intenta recuperar los

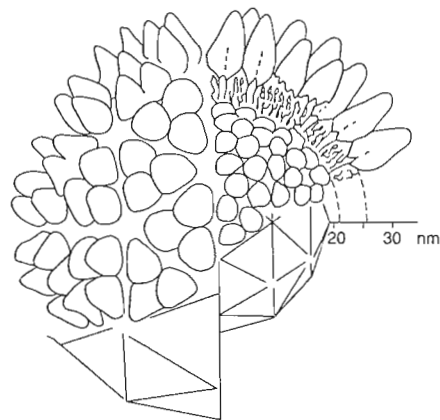


Figura 29-5. Vista de partículas del virus Sindbis. Nucleocápside icosaédrica rodeada por una bicapa de lípidos con espigas heterodímeras (en forma de pera) dispuestas como trímeros sobre la superficie del virus en un armazón icosaédrico. (Cortesía de S. Harrison; reproducido de Schlesinger S. Schlesinger MJ: *Togaviridae: The viruses and their replication*. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

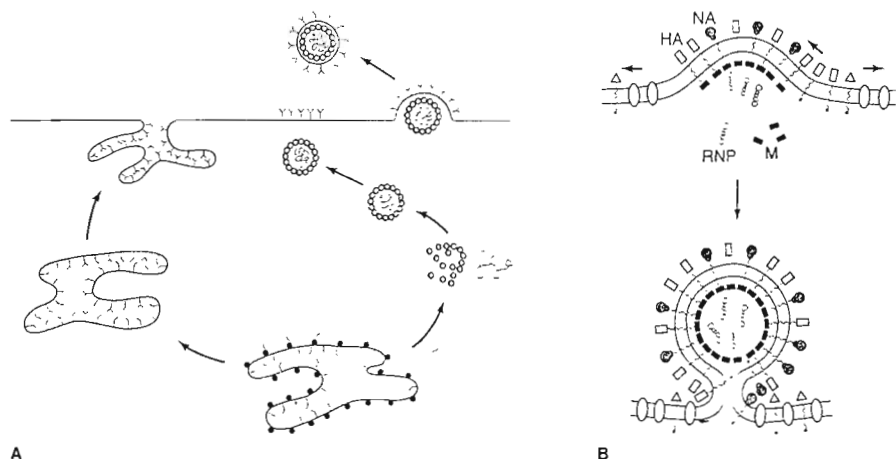


Figura 29-6. Dos diferentes mecanismos de gemación de los virus con envoltura. **A:** biosíntesis y ensamblado del virus Sindbis. La proteína de la estructura viral se sintetiza como poliproteína a partir de un solo mensajero. La proteína central se desdobla del precursor en una etapa inicial y los polisomas se reúnen entonces con membranas para completar la síntesis de las glucoproteínas, que se exportan a la superficie celular. La proteína central y el RNA se ensamblan para formar nucleocápsides que se reúnen con placas de glucoproteínas e inician la gemación. **B:** gemación del virus de la influenza. La proteína de la nucleocápside (NP), la proteína de la matriz (M) y las glucoproteínas (HA, NA) se sintetizan a partir de mensajeros independientes. Las glucoproteínas llegan a la superficie celular y la gemación es un proceso de coensamblado en la superficie celular entre glucoproteínas y los segmentos M y RNP, este último compuesto de RNA viral, proteína NP y las proteínas polimerasas. Las proteínas de la célula huésped se excluyen (flechas). (Reproducido con permiso de Harrison SC, Skehel JJ, Wiley DC: Virus structure. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

virus a partir de muestras clínicas para establecer la etiología de las enfermedades (véase capítulo 47). Los laboratorios de investigación cultivan virus como base para análisis detallados de expresión y multiplicación viral.

La disponibilidad de células que crecen *in vitro* ha facilitado la identificación y el cultivo de los virus de reciente aislamiento y la caracterización de algunos ya conocidos. Hay tres tipos básicos de cultivo de células. Los cultivos primarios se elaboran al dispersar las células (generalmente con tripsina) de los tejidos recién retirados del huésped. Como cultivos secundarios, en general, estas células no crecen más que unos cuantos pases. Las líneas de células diploides son cultivos secundarios en los que las células han sufrido un cambio que permite su cultivo limitado (hasta 50 pases), pero retienen su patrón cromosómico normal. Las líneas continuas de células son cultivos capaces de crecimiento más prolongado, quizá indefinido, derivadas de líneas de células diploides o de tejidos malignos. Invariablemente contienen un número irregular de cromosomas alterados. El tipo de cultivo de célula empleado para cultivar virus depende de la susceptibilidad de las células a un virus particular.

A. Detección de células infectadas por virus

La multiplicación de un virus se puede detectar de varias maneras:

1. Desarrollo de efectos citopáticos: es decir, cambios morfológicos en las células. Los efectos citopáticos inducidos por virus son de varios tipos e incluyen lisis o necrosis celular, formación de inclusiones, aparición de células gigantes y formación de vacuolas en el citoplasma (figura 29-7A, B y C). Casi todos los virus producen algún efecto citopático evidente en las células infectadas, generalmente característico del grupo viral.
2. Aspecto de la proteína codificada por el virus, como la hemaglutinina del virus de la influenza. Se pueden emplear antiseros específicos para detectar la síntesis de proteínas virales en células infectadas.
3. Adsorción de eritrocitos a las células infectadas, denominada hemadsorción, por la presencia de hemaglutinina codificada por el virus (parainfluenza, influenza) en la membrana celular. Esta reacción es positiva antes que los cambios citopáticos sean visibles, y en algunos casos aparece en ausencia de efectos citopáticos (figura 29-7D).
4. Detección de ácido nucleico virus-específico. Los ensayos con base molecular, como la reacción en cadena de polimerasa; son métodos de detección rápidos, sensibles y altamente específicos.
5. El crecimiento del virus en un embrión de pollo puede provocar la muerte del embrión (p. ej., virus de la encefalitis), producir pústulas o placas sobre la membrana corioalantoidea (como herpes, viruela, vacuna), desa-

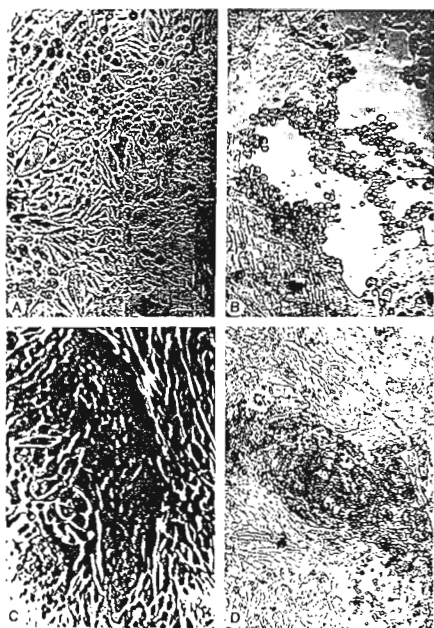


Figura 29-7. Efectos citopáticos producidos por diferentes virus en monocapas de células cultivadas. Los cultivos se muestran como se verían normalmente en el laboratorio sin fijación ni tinción (60 x). **A.** Enterovirus: las células se hacen redondas rápidamente y progresan hasta la destrucción celular completa. **B.** Herpesvirus: áreas focales de células redondeadas hinchadas. **C.** Paramyxovirus: área focal de células fusionadas (sincitio). **D.** Hemadsorción. Los eritrocitos se adhieren a las células de la monocapa infectada por el virus, con incorporación de una hemaglutinina a la membrana plasmática. Muchos virus envueltos que maduran por gemación sobre las membranas citoplásmicas producen hemadsorción. (Cortesía de I Jack; reproducido de White DO, Fenner FJ: *Medical Virology*, 3rd ed. Academic Press, 1986.)

rollar hemaglutininas en los líquidos o tejidos embrionarios (p. ej., influenza) o desarrollar virus infectante (p. ej., poliovirus tipo 2).

B. Formación de cuerpos de inclusión

En el curso de la multiplicación viral dentro de las células se pueden producir estructuras específicas de los virus denominadas cuerpos de inclusión. A veces adquieren mayor tamaño que la partícula viral individual y con frecuencia poseen afinidad por colorantes ácidos (p. ej., eosina). Pueden aparecer en el núcleo (herpesvirus; véase figura 33-3), el citoplasma (poxvirus), o en ambos (virus del sarampión; véase figura 40-5). En muchas infecciones virales los cuerpos de inclusión son el punto donde se desarrollan los viriones (fábricas virales). Las variaciones en el aspecto del

material de inclusión dependen principalmente del fijador empleado para los tejidos.

La presencia de cuerpos de inclusión puede tener importancia diagnóstica considerable. Las inclusiones intracitoplásmicas en las células nerviosas, los cuerpos de Negri, son patognómicas de la rabia.

Cuantificación de los virus

A. Métodos físicos

Los estudios cuantitativos con base en ácidos nucleicos, como la PCR determinan el número de copias genómicas virales en una muestra. Se detectan genomas infecciosos y no infecciosos. La variación de secuencia de virus podría reducir la detección y cuantificación de virus por este método.

Algunas pruebas serológicas, como el radioinmunoanálisis (RIA) y el análisis de inmunoadsorción ligada a enzimas (ELISA; véase capítulo 47), pueden estandarizarse para cuantificar la cantidad de virus en una muestra. Estas pruebas no distinguen partículas infectantes de no infectantes y a veces detectan proteínas virales no ensambladas en las partículas.

Ciertos virus contienen una proteína (hemaglutinina) capaz de aglutinar los eritrocitos de humanos o de algunos animales. Los análisis de hemaglutinación son un método rápido y fácil para cuantificar estos tipos de virus (véase capítulo 47). Tanto las partículas infectantes como las no infectantes producen esta reacción; por tanto, la hemaglutinación sólo mide la cantidad total de virus presentes.

Las partículas virales se pueden contar directamente con el microscopio electrónico si se comparan con suspensiones estándar de partículas de látex de tamaño similar. Sin embargo, para este procedimiento se requiere una preparación relativamente concentrada de virus y no pueden diferenciarse partículas virales infectantes de las no infectantes.

B. Métodos biológicos

Los análisis biológicos con punto terminal dependen del número de animales muertos, infección en animales, o efecto citopático en los cultivos de tejidos, con el virus analizado en diluciones seriadas. El título se expresa como 50% de la dosis infectante (DI_{50}), que es la recíproca de la dilución del virus que produce efecto en 50% de las células o de los animales inoculados. Para efectuar análisis precisos es necesario emplear un gran número de sujetos de prueba.

El análisis más utilizado para las infecciones virales es el análisis en placa. Se inoculan virus en diluciones adecuadas sobre monocapas de células huésped y luego de su adsorción se cubren con un medio que contiene agar o carboximetilcelulosa para evitar la propagación del virus a través del cultivo. Varios días después, las células inicialmente infectadas han generado virus sólo propagados a las células vecinas, produciendo una pequeña área o placa de infección. En condiciones controladas, una sola partícula viral, denominada unidad formadora de placa (UFP), origina infección en una sola placa. Las células infectadas en la placa pueden distinguirse de las células no infectadas de la monocapa por el efecto citopático, con o sin tinción adecuada. Las placas generalmente se pueden contar macroscópicamente.

mente. La proporción entre el número de partículas infectantes y el número total de partículas varía ampliamente, desde casi la unidad hasta menos de 1 por 1 000.

Ciertos virus, por ejemplo, herpes y el vaccinia, forman pústulas cuando se inoculan sobre la membrana corioalantoides de un embrión. Estos virus se pueden cuantificar al correlacionar el número de pústulas contadas con la dilución viral inoculada.

PURIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LOS VIRUS

Purificación de partículas virales

Para efectuar estudios significativos de las propiedades y de la biología molecular de algún agente hay que disponer de virus puros. En estudios de purificación, el material inicial casi siempre consiste en grandes volúmenes de medio de cultivo de tejidos, líquidos corporales o células infectadas. El primer paso frecuentemente implica la concentración de las partículas virales por precipitación con sulfato de amonio, etanol o polietilenglicol, o mediante ultrafiltración. Se pueden emplear hemaglutinación y elusión para concentrar ortomixovirus (véase capítulo 39). Una vez concentrado, el virus puede separarse de los materiales del huésped por centrifugación diferencial, centrifugación en un gradiente de densidad, cromatografía en columna y electroforesis.

Por lo general, se requiere más de un paso para lograr una purificación adecuada. Una purificación preliminar generalmente retirará suficiente material no viral. El primer paso puede incluir centrifugación; el paso final de la purificación casi siempre implica centrifugación en un gradiente de densidad. En la centrifugación con velocidad zonal se deposita una muestra de virus concentrados sobre un gradiente lineal de densidad, previamente formado con sacarosa o glicerol, y durante la centrifugación el virus sedimenta para formar una banda a una cierta velocidad, determinada principalmente por el tamaño y el peso de la partícula viral.

Los virus también se pueden purificar mediante centrifugación a gran velocidad en un gradiente de densidad de cloruro de cesio, tartrato de potasio, citrato de potasio o sacarosa. El material elegido para el gradiente es el menos tóxico para el virus. Las partículas virales migran hacia una posición de equilibrio donde la densidad de la solución es igual a su densidad de flotación y forman una banda visible.

Métodos adicionales de purificación se basan en las propiedades químicas de la superficie viral. En la cromatografía en columna, el virus se une a una sustancia como dietilaminoetil o fosfocelulosa y después se eluye mediante cambios de pH o de la concentración salina. La electroforesis en zona permite separar partículas virales de contaminantes, con base en la carga eléctrica. También se pueden emplear antiseros específicos para retirar partículas virales de los materiales del huésped.

Los virus icosaédricos son más fáciles de purificar, en comparación con los virus cubiertos. Puesto que estos últimos generalmente contienen cantidades variables de envoltura por partícula, la población viral es heterogénea tanto en tamaño como en densidad.

Es muy difícil lograr un virus totalmente puro. Pequeñas cantidades de material celular tienden a adsorberse en las partículas y se purifican concurrentemente. El criterio mínimo de pureza es un aspecto homogéneo en las microfotografías electrónicas y el fracaso de procedimientos adicionales de purificación para retirar "contaminantes" sin reducir la infecciosidad.

Identificación de una partícula como un virus

Cuando se obtiene una partícula físicamente característica, debe satisfacer todos los criterios siguientes antes de calificarse como partícula viral:

- 1) La partícula sólo se puede aislar de células o tejidos infectados.
- 2) Las partículas obtenidas de varias fuentes son idénticas, cualquiera que sea el origen celular en la cual creció el virus.
- 3) El grado de actividad infectante de la preparación varía directamente con el número de partículas presentes.
- 4) El grado de destrucción de la partícula por medios químicos o físicos se acompaña de una pérdida correspondiente de la actividad viral.
- 5) Debe demostrarse que la infecciosidad y ciertas propiedades de las partículas son idénticas; por ejemplo, su comportamiento de sedimentación en la ultracentrifuga y las curvas de la estabilidad con respecto al pH.
- 6) El espectro de absorción en el rango ultravioleta de la partícula física purificada debe coincidir con la inactivación del virus en el espectro ultravioleta.
- 7) Los antiseros preparados contra el virus infectante deben reaccionar con la partícula característica y viceversa. La observación directa de un virus desconocido se puede lograr mediante examen con microscopio electrónico del agregado que se forma en una mezcla de antisuero y suspensión viral cruda.
- 8) Las partículas deben ser capaces de inducir *in vivo* la enfermedad característica (si estos experimentos son factibles).
- 9) Los pases sucesivos de las partículas en cultivo de tejidos deben producir una progenie con las propiedades biológicas y serológicas del virus.

SEGURIDAD EN EL LABORATORIO

Muchos virus son patógenos humanos y pueden presentar infecciones contraídas en el laboratorio. Con frecuencia los procedimientos de laboratorio son potencialmente peligrosos si no se sigue una técnica apropiada. Algunas contingencias que pueden exponer al personal de laboratorio al riesgo de una infección son las siguientes: 1) aerosoles, generados durante la homogeneización de tejidos infectados, centrifugación, vibración ultrasónica o por la rotura de envases de vidrio; 2) ingestión por pipetear con la boca, por comer o fumar en el laboratorio, o por lavado inapropiado de las manos; 3) penetración a través de la piel por pincha-

zo con aguja, rotura de envases de vidrio, contaminación de las manos por escurrimiento de envases, manejo de tejidos infectados, mordeduras de animales; y 4) salpicaduras en los ojos.

Las prácticas satisfactorias de bioseguridad incluyen las siguientes: 1) adiestramiento en técnicas asépticas y empleo de las mismas; 2) prohibir el pipeteo con la boca; 3) no comer, beber o fumar en el laboratorio; 4) empleo de equipo protector (batas, guantes, máscaras, etc.); este equipo no debe emplearse fuera del laboratorio; 5) esterilización de los desechos experimentales; 6) empleo de campanas de bioseguridad; y 7) inmunización cuando se dispone de vacunas pertinentes. Si el personal trabaja con agentes de alto riesgo, como filovirus (véase capítulo 38) y virus de la rabia, se requieren precauciones adicionales e instalaciones especiales de contención (nivel IV de bioseguridad).

REACCIÓN A LOS AGENTES FÍSICOS Y QUÍMICOS

Calor y frío

Existe gran variabilidad en la termoestabilidad de los diferentes virus. Los virus icosaédricos tienden a ser estables y pierden poca infectiosidad después de varias horas a 37 °C. Los virus cubiertos son mucho más termolábiles y su título decae con prontitud a 37 °C. La infectiosidad viral generalmente desaparece por calentamiento de 50 a 60 °C durante 30 min, aunque existen algunas excepciones notables (p. ej., virus de la hepatitis B, poliovirus, agente de la encefalitis espongiforme).

Los virus pueden conservarse almacenados a temperaturas inferiores a la de congelación y algunos pueden resistir la liofilización y por tanto conservarse en estado seco a 4 °C o incluso a temperatura ambiente. Los virus que resisten la liofilización resisten temperaturas mayores cuando se calientan en estado seco. Los virus envueltos tienden a perder la infectiosidad luego de almacenamiento prolongado incluso a -90 °C y son particularmente sensibles a congelación y descongelamiento repetidos.

Estabilización de los virus mediante sales

Muchos virus pueden estabilizarse con sales en concentración de 1 mol/L; es decir, los virus no se inactivan incluso por calentamiento a 50 °C durante 1 h. Se desconoce el mecanismo para estabilizar preparaciones virales mediante la adición de sales. Se prefieren ciertas sales para estabilizar virus. El $MgCl_2$, 1 mol/L, estabiliza picornavirus y reovirus; el $MgSO_4$, 1 mol/L, estabiliza ortomixovirus y paramixovirus; y el Na_2SO_4 , 1 mol/L, estabiliza herpesvirus.

La estabilidad de los virus es importante en la preparación de vacunas. La vacuna oral de la poliomielitis ordinaria no estabilizada debe almacenarse a temperaturas de congelación para conservar su potencia. Sin embargo, con la adición de sales para estabilizar el virus la potencia se conserva durante semanas a temperatura ambiente, incluso en las altas temperaturas de los trópicos.

pH

Los virus generalmente son estables a valores de pH entre 5.0 y 9.0. Algunos virus (p. ej., enterovirus) resisten condiciones ácidas. Todos se destruyen en condiciones alcalinas. En las reacciones de hemaglutinación, las variaciones menores de una unidad de pH pueden influir el resultado.

Radiación

La radiación ultravioleta, rayos X y partículas de alta energía inactivan los virus. La dosis varía para diferentes virus. La infectividad es la propiedad más radiosensible puesto que la replicación requiere expresión de todo el contenido genético. Las partículas irradiadas incapaces de replicarse pueden aún expresar algunas funciones específicas en las células huésped.

Inactivación fotodinámica

Los virus pueden dejarse penetrar en grado variable por colorantes vitales, como azul de toluidina, rojo neutro y proflavina. Estos colorantes se unen al ácido nucleico viral, y el virus adquiere susceptibilidad a la inactivación por la luz visible. Comúnmente se utiliza el rojo neutro para teñir los análisis en placa, de modo que ésta pueda observarse con mayor facilidad. Una vez añadido el rojo neutro deben protegerse las placas de la luz brillante; de otro modo existe el riesgo de que la progenie viral se inactive e interrumpa el desarrollo en la placa.

Susceptibilidad al éter

La susceptibilidad al éter puede distinguir un virus que posee cubierta del que no la posee. En el cuadro 29-1 se presenta esta susceptibilidad en diferentes grupos de virus.

Detergentes

Los detergentes no iónicos (p. ej., Nonidet P40 y Tritón X-100) solubilizan el elemento lipídico de la membrana viral. Liberan (desnaturalizan) las proteínas virales de la envoltura. Los detergentes aniónicos (p. ej., el dodecilsulfato de sodio) también solubilizan la envoltura viral; además, fragmentan las cápsides en polipéptidos separados.

Formaldehído

El formaldehído suprime la infectividad del virus al reaccionar con su ácido nucleico. Los virus cuyo genoma contiene una sola cadena se inactivan con mucha mayor facilidad en comparación con aquellos cuyo genoma contiene dos cadenas. El formaldehído muestra efectos adversos mínimos sobre la antigenicidad de las proteínas y, por tanto, se emplea con frecuencia en la producción de vacunas a base de virus inactivados.

Antibióticos y otros antibacterianos

Los antibióticos y las sulfonamidas antibacterianas no tienen efecto sobre los virus. Sin embargo, se dispone de algunos fármacos antivirales (véase capítulo 30).

En general, los compuestos de amonio cuaternario no son eficaces contra los virus. Los compuestos a base de yodo orgánico tampoco lo son. Para destruir virus se requieren concentraciones mayores de cloro que las necesarias para destruir bacterias, sobre todo en presencia de proteínas extrañas. Por ejemplo, el tratamiento adecuado con cloro para inactivar el bacilo de la tifoidea en las heces es inadecuado para destruir el virus de la poliomielitis presente en éstas. Los alcoholes como el isopropanol y el etanol son relativamente ineficaces para ciertos virus, en especial los picornavirus.

Métodos comunes para inactivar virus con diferentes propósitos

Los virus pueden inactivarse por diferentes razones: para esterilizar instrumentos de laboratorio, desinfectar superficies o piel, asegurar la pureza del agua potable, y producir vacunas a base de virus inactivado. Con estos propósitos se emplean diferentes métodos y sustancias químicas.

La esterilización se podría llevar a cabo mediante vapor a presión, calor seco, óxido de etileno e irradiación gamma. Los desinfectantes de superficie son hipoclorito de sodio, glutaraldehído, formaldehído y ácido peracético. Los desinfectantes de la piel son clorhexidina, etanol al 70% y yodóforos. La producción de vacunas podría estar relacionada con el uso de formaldehído, β propiolactona, psoraleno + radiación ultravioleta, o bien, detergentes (vacunas con subunidad) para desactivar al virus de la vacuna.

REPLICACIÓN DE LOS VIRUS: UNA REVISIÓN

Los virus se multiplican sólo en las células vivas. La célula huésped debe proporcionar energía, mecanismos de síntesis y precursores de bajo peso molecular para sintetizar proteínas y ácidos nucleicos virales. El ácido nucleico viral contiene la especificidad genética de una manera muy organizada para codificar todas las macromoléculas específicas del virus.

Para que un virus se replique, las proteínas virales deben sintetizarse en la maquinaria celular del huésped. Por tanto, el virus debe producir un mRNA utilizable. Se han identificado varios mecanismos que permiten al RNA viral competir con éxito contra el mRNA celular para producir cantidades adecuadas de proteínas virales.

La característica más peculiar de la multiplicación viral es que poco después de la interacción con una célula huésped, el virión infectante se fragmenta y pierde su infectividad cuantificable. Esta fase del ciclo de crecimiento se denomina **período de eclipse**; su duración varía según el virus particular y la célula huésped, y va seguido de un intervalo de acumulación rápida de una progenie de partículas

virales infectantes. En realidad, el período de eclipse es de intensa actividad de síntesis conforme la célula se reorienta a satisfacer por completo las necesidades del virus "pirata". En ciertos casos, tan pronto como el ácido nucleico viral penetra a la célula huésped, el metabolismo celular se reorienta exclusivamente a sintetizar nuevas partículas virales y la célula se destruye. En otros casos, el proceso metabólico de la célula huésped no se altera de manera significativa, aunque sintetiza proteínas y ácidos nucleicos virales, y la célula no presenta daño notable.

Una vez sintetizados los ácidos nucleicos y las proteínas virales, estos elementos se ensamblan para formar nuevos viriones infectantes. La producción de virus infectantes por cada célula varía ampliamente, desde cantidades pequeñas hasta más de 100 000 partículas. La duración del ciclo de replicación del virus también varía extensamente, desde 6 a 8 h (picornavirus) hasta más de 40 h (algunos herpesvirus).

No en todas las infecciones virales se producen nuevos virus. Las infecciones productivas tienen lugar en células **permisivas**, y como resultado se generan virus infectantes. Las infecciones **abortivas** no producen progenie infectante, ya sea porque la célula no es **permissiva** y es incapaz de apoyar la expresión de todos los genes virales, o porque el virus infectante puede ser **defectuoso** y carece de algún gen viral funcional. Puede sobrevenir una infección **latente** con persistencia del genoma viral, sin la expresión de sus genes, o sólo de algunos, y la supervivencia de la célula infectada.

Etapas generales en los ciclos de replicación viral

Los virus han desarrollado a través de la evolución varias estrategias para multiplicarse en las células huésped parasitadas. Los detalles varían de un grupo a otro, pero el esquema general de los ciclos de reproducción es similar. En la figura 29-8 se ilustra el crecimiento de un virus de DNA. En los siguientes capítulos se incluyen detalles dedicados a grupos virales específicos.

A. Adhesión, penetración y pérdida de la envoltura

El primer paso en la infección viral es la **adhesión**, o interacción de un virión con un sitio receptor específico sobre la superficie de una célula. Las moléculas receptoras difieren para distintos virus, pero en general son glucoproteínas. En algunos casos el virus se enlaza a secuencias de proteínas (p. ej., picornavirus), y en otros a oligosacáridos (p. ej., ortomixovirus y paramixovirus). Se estima que el enlace al receptor refleja homología configuracional fortuita entre una estructura de la superficie del virión y un componente de la superficie celular. Por ejemplo, el virus de la inmunodeficiencia humana se une al receptor CD4 sobre las células del sistema inmunitario, el rinovirus se une a la molécula de adhesión intercelular tipo 1 (ICAM-1), y el virus de Epstein-Barr reconoce al receptor CD21 sobre las células B. La presencia o ausencia de receptores desempeña una función determinante para el tropismo celular y la patogenia viral. En un huésped susceptible no todas las cé-

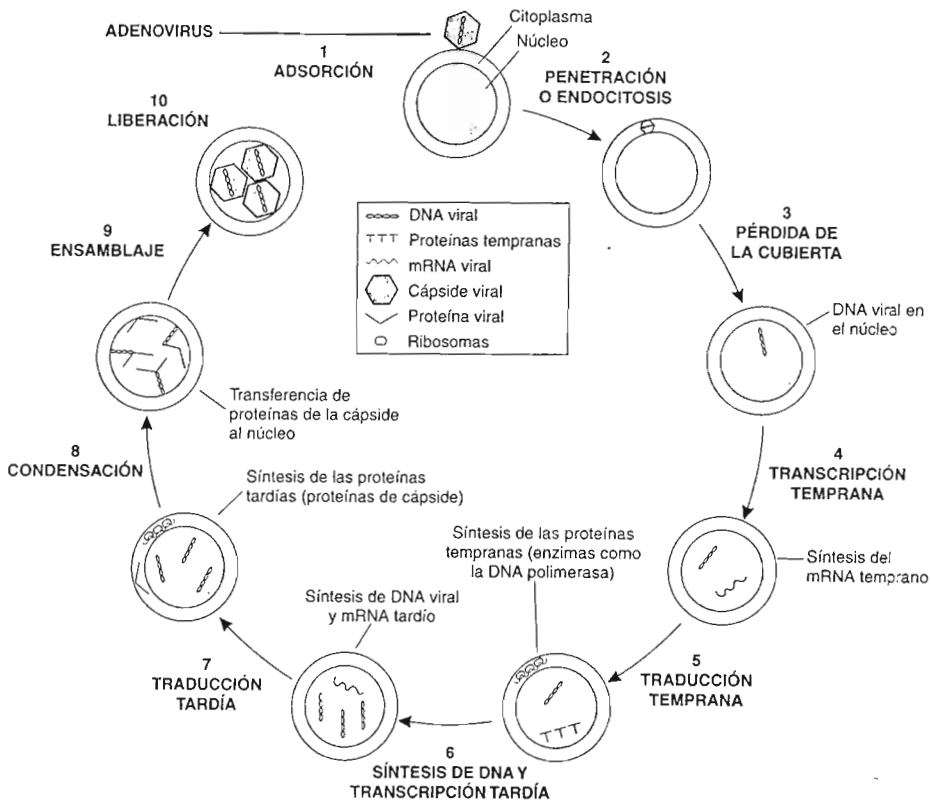


Figura 29-8. Ejemplo de un ciclo de crecimiento viral. Se muestra el ciclo de crecimiento del adenovirus, un virus DNA sin cubierta. (Reproducido con autorización de Levinson W, Jawetz E: *Medical Microbiology & Immunology Examination & Board Review*, 6th ed. McGraw-Hill, 2000. Modified there from Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA: *Review of Medical Microbiology*, 16th ed. McGraw-Hill, 1984.)

lulas expresan los receptores necesarios; por ejemplo, el poliovirus sólo puede atacar las células del sistema nervioso central y del intestino de los primates. Cada célula susceptible puede contener más de 100 000 sitios receptores para un determinado virus. La etapa de adhesión puede iniciar cambios estructurales irreversibles en el virión.

Después de enlazarse, la partícula viral pasa al interior de la célula. Este paso se conoce como **penetración** o **endocitosis**. En algunos sistemas se logra a través de endocitosis mediada por receptor, con la captación de las partículas virales dentro de endosomas. También hay ejemplos de penetración directa de partículas virales a través de la membrana plasmática. En otros casos hay fusión de la envoltura del virión con la membrana plasmática de la célula. Estos sistemas implican interacción de una proteína viral

de fusión con un segundo receptor celular (p. ej., los receptores de quimiocina para el virus de inmunodeficiencia humana [VIH]).

La **pérdida de la cubierta** se presenta de manera concomitante con la penetración o poco después. Es la separación física del ácido nucleico viral de los componentes estructurales externos del virión para poder ejercer sus funciones. A veces, el genoma se libera como ácido nucleico libre (picornavirus) o como nucleocápside (reovirus). Las nucleocápsides generalmente contienen polimerasas. En ocasiones la pérdida de la cubierta requiere un pH ácido en el endosoma. En la etapa de pérdida de la cubierta, la infectividad original del virus se pierde. Los virus son los únicos agentes infecciosos que requieren la disolución del agente infectante como paso obligado en la vía de la replicación.

B. Expresión de genomas virales y síntesis de componentes virales

La fase de síntesis del ciclo viral de replicación se presenta después de la pérdida de la cubierta del genoma viral. El punto esencial en la replicación viral es que debe transcribirse el mRNA específico del ácido nucleico viral para que tengan éxito la expresión de la información genética y la duplicación. Una vez lograda la transcripción, los virus emplean componentes de la célula para traducir el mRNA. Las distintas clases de virus utilizan diferentes vías para sintetizar el mRNA según la estructura del ácido nucleico viral. En el cuadro 29-2 se resumen las diferentes vías de transcripción (pero no necesariamente de replicación) de los ácidos nucleicos de diferentes clases de virus. Algunos de éstos (p. ej., rabdovirus) contienen RNA polimerasa para sintetizar el mRNA. Los virus de RNA de este tipo se denominan virus de cadena negativa (sentido negativo), puesto que su genoma RNA de una sola cadena es complementario del mRNA, convencionalmente designada cadena positiva (sentido positivo). Los virus de cadena negativa deben suministrar su propia RNA polimerasa, porque, igual que los eucariotes, carecen de enzimas capaces de sintetizar el mRNA a partir de una plantilla.

En el curso de la replicación viral, todas las macromoléculas especificadas por el virus se sintetizan en una secuencia muy organizada. En algunas infecciones virales, sobre todo las causadas por virus con DNA de doble cadena, las proteínas virales tempranas se sintetizan poco después de la infección y las proteínas tardías sólo se elaboran al final de la infección, luego de la síntesis del DNA viral.

Pueden activarse o no genes tempranos cuando se elaboran los productos finales. Por el contrario, la mayor parte, si no toda la información genética de los virus de RNA, se expresa al mismo tiempo. Además de estos controles temporales también hay un control cuantitativo, puesto que no todas las proteínas virales se sintetizan en igual cantidad. Las proteínas específicas del virus pueden regular la extensión de la transcripción del genoma o la traducción del mRNA viral.

Los virus pequeños de animales y los bacteriófagos son buenos modelos para estudiar la expresión génica. Se ha dilucidado la secuencia total de nucleótidos de muchos virus. Esto condujo al descubrimiento de genes sobrepuestos en los cuales algunas secuencias de DNA se utilizan en la síntesis de dos polipéptidos diferentes, ya sea por el uso de dos marcos de lectura diferentes o por dos moléculas de mRNA que utilizan el mismo marco de lectura, pero puntos de inicio diferentes. En un sistema viral (adenovirus) se reveló por primera vez el fenómeno de procesamiento del mRNA denominado "empalme" (*splicing*), en el cual las secuencias del mRNA que codifican una proteína determinada se generan a partir de secuencias separadas en la plantilla, con secuencias interpuestas no codificantes empalmadas fuera del transcriptoma.

La variedad más amplia de estrategias para la expresión génica se observa en los virus de RNA (cuadro 29-3). Algunos viriones contienen polimerasas (ortomixovirus, reovirus); ciertos sistemas utilizan mensajes subgenómicos, a veces generados por *splicing* (ortomixovirus, retrovirus), y algunos virus sintetizan grandes poliproteínas precursoras procesadas y segmentadas para generar los productos

Cuadro 29-2. Vías de transcripción del ácido nucleico en varios tipos de virus

Tipo de ácido nucleico viral	Intermedios	Tipos de mRNA	Ejemplo	Comentarios
± DNA ds	Ninguno	+mRNA	La mayor parte de los virus con DNA (p. ej., herpesvirus, adenovirus)	
+ DNA ss	± DNA ds	+mRNA	Parvovirus	
± RNA ds	Ninguno	+mRNA	Reovirus	El virión contiene RNA polimerasa que transcribe cada segmento al mRNA
+ RNA ss	± RNA ds	+mRNA	Picornavirus, togavirus, flavivirus	El ácido nucleico viral es infectante y sirve como mRNA. Para los togavirus, se forman +mRNA más pequeños para ciertas proteínas
- RNA ss	Ninguno	+mRNA	Rabdovirus, paramixovirus, ortomixovirus	El ácido nucleico viral no es infectante; el virión contiene RNA polimerasa que forma +mRNA más pequeño que el genoma. Para ortomixovirus cada segmento transcribe +mRNA
+ RNA ss	-DNA, ± DNA	+mRNA	Retrovirus.	El virión contiene transcriptasa inversa: el RNA viral no es infectante, pero el DNA complementario de la célula transformada sí lo es

ds = cadena doble, ss = cadena única. — cadena negativa, + cadena positiva, ± hélice con una cadena positiva y una negativa.

Cuadro 29-3. Comparación de las estrategias de replicación de varias importantes familias de virus con RNA

Características	Agrupamiento con base en el RNA genómico ¹					
	Virus de cadena positiva		Virus de cadena negativa			Virus de doble cadena
	Picornaviridae	Togaviridae	Retroviridae	Orthomyxoviridae	Paramyxoviridae y Rhabdoviridae	Reoviridae
Estructura del RNA genómico	ss	ss	ss	ss	ss	ds
Sentido del RNA genómico	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	
Genoma segmentado	0	0	0 ²	+	0	+
RNA genómico infectante	+	+	0	0	0	0
El RNA genómico actúa como mensajero	+	+	+	0	0	0
Polimerasa relacionada con el virión	0	0	+ ³	+	+	+
Mensajes subgenómicos	0	+	+	+	+	+
Precusores poliproteínicos	+	+	+	0	0	0

¹ Abreviaturas empleadas: ss = cadena única, ds = cadena doble, positivo = mismo sentido que el mRNA, negativo = complementario del mRNA, + = indica que la propiedad se aplica a esa familia de virus, 0 = indica que la propiedad no se aplica a esa familia de virus.

² El retrovirus contiene un genoma diploide (dos copias de RNA genómico no segmentado).

³ El retrovirus contiene una transcriptasa inversa (DNA polimerasa dependiente del RNA).

finales del gen (picornavirus, retrovirus). La clase de fármacos llamados inhibidores de proteasa es la que inhibe a la proteasa viral del VIH.

El grado de participación de las enzimas específicas del virus en estos procesos varía de un grupo a otro. Los virus de DNA que se multiplican en el núcleo generalmente emplean DNA y RNA polimerasas, y enzimas procesadoras de la célula huésped. Los virus de mayor tamaño (herpesvirus, poxvirus) son más independientes de las funciones celulares en comparación con los virus más pequeños. Esta es una razón de que los virus de mayor tamaño sean más susceptibles a la quimioterapia antiviral (véase capítulo 30), puesto que muchos de los procesos específicos del virus se encuentran disponibles como objetivos para la acción del fármaco.

Los sitios intracelulares donde tienen lugar los diferentes eventos de la replicación viral varían de un grupo a otro (cuadro 29-4). Se pueden realizar pocas generalizaciones. La proteína viral se sintetiza en el citoplasma sobre los polirribosomas compuestos de mRNA específico del virus y ribosomas de la célula huésped. Muchas proteínas virales sufren modificaciones (glucosilación, acilación, desdoblamiento, etc.). En general, el DNA viral se replica en el núcleo; el RNA genómico viral casi siempre se duplica en el citoplasma celular, aunque hay excepciones.

C. Morfogénesis y liberación

Genomas virales y polipéptidos de la cápside recién sintetizados se reúnen para ensamblarse y formar la progenie del virus. Las cápsides icosaédricas pueden condensarse en ausencia de ácido nucleico, en tanto que las nucleocápsides de los virus con simetría helicoidal no pueden formarse sin RNA viral. No existen mecanismos especiales para la liberación de los virus sin envoltura; con el tiempo, las células infectadas sufren lisis y liberan las partículas del virus.

Los virus con envoltura maduran mediante un proceso de generación. Las glucoproteínas específicas de la envoltura

se introducen en las membranas celulares; a continuación las nucleocápsides virales producen yemas a través de la membrana en estos sitios modificados y, al hacerlo, adquieren una envoltura. La gemación frecuentemente ocurre en la membrana plasmática, pero puede afectar otras membranas dentro de la célula. Los virus con envoltura no son infectantes mientras no adquieran su envoltura. Por tanto, no suele acumularse en la célula infectada la progenie infectante viral.

A veces la maduración viral es un proceso ineficiente. Pueden acumularse cantidades excesivas de elementos virales y participar en la formación de cuerpos de inclusión dentro de la célula. Como resultado de los profundos efectos nocivos de la replicación del virus, finalmente se desarrollan efectos citopáticos celulares y la célula muere. Sin embargo, en algunos casos el virus no daña la célula y evoluciona una infección persistente a largo plazo (véase capítulo 30). Los mecanismos inducidos por el virus pueden regular la apoptosis, evento programado genéticamente, el cual lleva a las células a su autodestrucción. Algunas infecciones virales retrasan la apoptosis temprana y obtienen tiempo para la producción de una gran cantidad de progenie viral. Además, ciertos virus inducen de manera activa la apoptosis en etapa tardía para facilitar la propagación de la progenie viral a nuevas células.

GENÉTICA DE LOS VIRUS ANIMALES

El análisis genético es una técnica poderosa para entender la estructura y la función del genoma viral, los productos de sus genes, y su función en la infección y la enfermedad. La variación de las propiedades virales tiene gran importancia para la medicina. Los virus que poseen antígenos estables sobre su superficie (poliovirus, virus del sarampión) se pueden controlar mediante vacunación. Otros virus que exis-

Cuadro 29-4. Resumen de los ciclos de replicación de las principales familias de virus.

Familia de virus	Presencia de envoltura del víron	Localización intracelular ¹		Maduración del víron	Duración del ciclo de multiplicación (horas) ³
		Replicación del genoma	Formación de nucleocápside ²		
Virus de DNA					
<i>Parvoviridae</i>	0	N	N	N	
<i>Polyomaviridae</i>	0	N	N	N	48
<i>Adenoviridae</i>	0	N	N	N	25
<i>Hepadnaviridae</i>	+	N	C	M-E	
<i>Herpesviridae</i>	+	N	N	M	15 a 72
<i>Poxviridae</i>	0	C	C	C	20
Virus de RNA					
<i>Picornaviridae</i>	0	C	C	C	6 a 8
<i>Reoviridae</i>	0	C	C	C	15
<i>Togaviridae</i>	+	C	C	M-P	10 a 24
<i>Flaviviridae</i>	+	C	C	M-E	
<i>Retroviridae</i>	+	N	C	M-P	
<i>Bunyaviridae</i>	+	C	C	M-G	24
<i>Orthomyxoviridae</i>	+	N	N	M-P	15 a 30
<i>Paramyxoviridae</i>	+	C	C	M-P	10 a 48
<i>Rhabdoviridae</i>	+	C	C	M-P	6 a 10

¹ Abreviaturas empleadas: C = citoplasma; N = núcleo; M = membranas; M-G = membrana de Golgi; M-P = membranas plasmáticas; M-E = membrana del retículo endoplásmico.

² La síntesis de las proteínas virales se presenta ocurre en el citoplasma.

³ Los valores mostrados para la duración del ciclo de replicación son aproximados; los intervalos indican que varios miembros dentro de una familia determinada se replican con cinética diferente. Los diferentes tipos de célula huésped también influyen en la cinética de la replicación viral.

ten como numerosos tipos antigénicos (rinovirus) o cambian constantemente (virus de la influenza A) son difíciles de controlar por vacunación; la genética viral también puede ayudar a desarrollar vacunas más eficaces. Ciertos tipos de infección viral recidivan de manera reiterada (virus de la parainfluenza) o persisten (retrovirus) aun en presencia de anticuerpos y a veces se controlan mejor mediante fármacos antivirales. El análisis genético ayuda a identificar procesos específicos del virus, que pueden ser blancos apropiados para el desarrollo de tratamientos antivirales.

Para un análisis genético, los siguientes términos son básicos: **genotipo** se refiere a la constitución genética de un organismo. **Fenotipo** se refiere a las propiedades observables de un organismo producidas por el genotipo en colaboración con el ambiente. La **mutación** es un cambio hereditario del genotipo. El **genoma** es la suma de los genes de un organismo. **Virus de tipo nativo** denota al virus original del que se derivaron los mutantes y contra el cual se comparan dichos mutantes; este término no caracteriza con precisión la variedad del virus aislada en la naturaleza. Los virus recientes aislados del huésped natural se conocen como **aislados de campo** o **aislados primarios**.

Mapeo de los genomas virales

Los avances recientes en la genética de los virus animales, mediante la utilización de las técnicas rápidas y precisas de la biología molecular, han facilitado la identificación de

productos del gen viral y el mapeo de éstos en el genoma viral. Los mapeos bioquímico y físico generalmente se pueden hacer con mayor rapidez que el mapeo genético que utiliza las técnicas genéticas típicas.

Para virus que se pueden clonar con facilidad, el análisis de secuencia y la comparación con virus conocidos se podría usar en lugar de los métodos descritos a continuación para el mapeo de genomas virales.

Con el virus de la influenza A (que posee un genoma de ocho segmentos de RNA, cada uno codificante de una proteína viral) se emplea la técnica de mapeo por redistribución. En condiciones adecuadas, los segmentos del genoma de RNA y los polipéptidos de diferentes virus de la influenza A migran a velocidades diferentes en el gel de poliácridamida, de modo que se pueden diferenciar las cepas. Al analizar los recombinantes (redistribuidos) formados entre diferentes virus de la influenza, se puede determinar el segmento de RNA que codifica cada proteína.

Las endonucleasas de restricción pueden emplearse para identificar cepas específicas de virus DNA. El DNA viral se aísla e incuba con una endonucleasa específica hasta que las secuencias del DNA susceptibles a la nucleasa se separan. A continuación se determinan los fragmentos con base en su tamaño mediante electroforesis en gel. Los fragmentos mayores se retardan más por el efecto de fraccionamiento del gel, de modo que se observa una relación inversa entre tamaño y migración. La posición de los fragmentos de DNA se puede determinar por autorradiografía o por técnicas especializadas de tinción. Estas técnicas de mapeo

físico
donde

gené
car
del g
restr
ciclo
cos
del
en re
y mu
viral
en lu

Tip

Los
male
cuan
fecti
ción
asign
dos i
o res
teína
paci
con
espor
diant

DNA
gené
más
requ
cos. I
de cE
pued
(pues
tícos
la se
pued
de rep
came
en sí
por d
el ana
elem

morta
conj
misiv
otras
morta
y mu
termo
no a
diver
de cé
infect

físico son muy útiles para distinguir tipos de virus en sistemas donde éstos no se pueden cultivar (p. ej., papilomavirus).

Los mapas físicos se pueden correlacionar con mapas genéticos si se dispone de estos últimos. Esto permite ubicar a los productos del gen viral en regiones individuales del genoma definidas por los fragmentos de las enzimas de restricción. La transcripción de los mRNA durante todo el ciclo de replicación se puede asignar a fragmentos específicos del DNA. También es posible alterar fragmentos aislados del DNA viral con mutágenos para introducir mutaciones en regiones definidas del genoma. Para estudios de mapeo y mutagénesis se pueden emplear fragmentos del genoma viral generados por la reacción en cadena de la polimerasa en lugar de fragmentos de la enzima de restricción.

Tipos de virus mutantes

Los estudios significativos de genética clásica con virus animales requieren un método de análisis que sea sensible y cuantitativamente preciso, como el análisis en placa para infectividad viral, y mutantes apropiados (resultantes de mutaciones únicas) razonablemente estables, a los cuales sea fácil asignar puntuación. Algunos de los indicadores más utilizados incluyen morfología en la placa, escape a los anticuerpos o resistencia al antisuero neutralizante, pérdida de una proteína viral, resistencia a fármacos, varios huéspedes, e incapacidad para crecer a temperaturas bajas o altas. Los mutantes con estos indicadores se obtienen después de una mutación espontánea, luego de tratamiento con un mutágeno, o mediante ingeniería genética con técnicas moleculares.

En la actualidad es común emplear la clonación del DNA recombinante de secuencias virales para el análisis de genética molecular. Los virus de DNA de doble cadena son más fáciles de clonar, aunque los virus de mayor tamaño requieren clonación graduada de fragmentos subgenómicos. Los virus con genoma de RNA se clonan como copias de cDNA. Esto permite el análisis genético de virus que no pueden cultivarse (papilomavirus) y de los virus con RNA (puesto que no se dispone de métodos bioquímicos y genéticos para genomas de RNA), y así garantizar la pureza de la secuencia del DNA bajo estudio, evitando cambios que pueden presentarse en el virus progenitor durante los ciclos de replicación en células cultivadas. Actualmente es técnicamente posible introducir diferentes tipos de mutaciones en sitios precisos del DNA viral clonado. Las mutaciones por delección, por vincular y las puntuales son útiles para el análisis funcional de las secuencias codificadas y de los elementos virales con acción *cis*.

Los mutantes mortales condicionales son mutantes mortales (sin haberse producido virus infectantes) bajo un conjunto de condiciones (denominadas condiciones no permisivas), pero que producen progenie infectante normal en otras (llamadas condiciones permisivas). Los mutantes mortales condicionales incluyen mutantes termosensibles y mutantes en la diversidad de huéspedes. Los mutantes termosensibles crecen a temperaturas bajas (permisivas) pero no a temperaturas altas (no permisivas). Los mutantes en la diversidad de huéspedes son capaces de crecer en un tipo de célula (célula permisiva), en tanto que en otro tipo hay infección abortiva (célula no permisiva). Después de la in-

ducción y aislamiento de un conjunto de mutantes mortales condicionales, los estudios en infecciones mixtas, con pares de mutantes bajo condiciones permisivas y no permisivas, pueden producir información respecto de la función y la secuencia del gen (mapeo genético), así como de los mecanismos de la replicación viral a nivel molecular.

Virus defectuosos

Virus defectuosos es el que carece de uno o más de los genes funcionales necesarios para su replicación. Los virus defectuosos requieren actividad auxiliar de otro genoma viral o de genes de virus para alguna etapa de la replicación o de la maduración.

Un tipo de virus defectuoso carece de una porción de su genoma (es decir, mutante por delección). La extensión de la pérdida por delección puede variar desde una corta secuencia de bases hasta una gran porción del genoma. Los mutantes por delección espontánea pueden interferir con la replicación de virus homólogos y se les denomina partículas virales defectuosas de interferencia. Las partículas defectuosas de interferencia han perdido segmentos esenciales del genoma, pero contienen proteínas normales en la cápside; requieren virus infectantes homólogos como auxiliares para replicarse e interfieren con la replicación de dichos virus homólogos. Las partículas defectuosas de interferencia pueden ser biológicamente importantes. Se ha propuesto que las partículas virales defectuosas pueden desempeñar una función en el establecimiento y conservación de infecciones persistentes.

Otra categoría de virus defectuosos requiere como auxiliar un virus no relacionado pero competente para su replicación. Entre los ejemplos se incluyen los virus satélite que acompañan a los adenovirus y el virus de la hepatitis D (agente δ), que sólo se reproducen en presencia de adenovirus humano coinfectante o de virus de la hepatitis B, respectivamente. Nunca se han recuperado aislados no defectuosos de este tipo de virus defectuosos. La función auxiliar esencial suministrada por el virus cooperador varía según el sistema.

Los pseudoviriones, un tipo diferente de partícula defectuosa, contienen DNA de las células huésped en lugar del genoma viral. Durante la replicación del virus, la cápside a veces encierra fragmentos al azar de ácido nucleico del huésped y no ácido nucleico viral. Estas partículas tienen aspecto de partículas virales ordinarias cuando se observan con el microscopio electrónico, pero no se multiplican. Teóricamente los pseudoviriones tienen capacidad para efectuar la transducción del ácido nucleico celular de una célula a otra.

Por lo general, los retrovirus transformantes son defectuosos. Una porción del genoma viral se ha eliminado y sustituido con una pieza de DNA de origen celular que codifica una proteína transformante. Estos virus permitieron identificar oncogenes celulares (véase capítulo 43). Se requiere otro retrovirus auxiliar para que el virus transformante se multiplique.

Interacciones entre virus

Cuando dos o más partículas virales infectan a la misma célula huésped pueden interactuar de diferentes maneras.

Deben guardar una relación lo bastante estrecha, generalmente dentro de la misma familia viral, para que ocurran casi todos los tipos de interacción. La interacción genética produce una progenie que es distinta, desde el punto de vista hereditario (genéticamente), de cualquiera de sus progenitores. Una progenie producida como consecuencia de interacciones no genéticas es similar a los virus progenitores. En las interacciones genéticas interactúa la verdadera molécula de ácido nucleico, en tanto que los productos de los genes participan en interacciones no genéticas.

A. Recombinación

La recombinación produce una progenie viral (recombinante) con rasgos no observados en ninguno de los progenitores. El mecanismo típico es que al romperse las cadenas del ácido nucleico, una parte del genoma de un progenitor se une a la parte correspondiente del genoma del segundo progenitor. El virus recombinante es estable genéticamente y después de la replicación produce una progenie similar a sí mismo (véase capítulo 39). La frecuencia de recombinación varía ampliamente en los virus. En el caso de virus con genomas segmentados (p. ej., virus de la influenza), la formación de recombinantes se debe a la redistribución de fragmentos individuales del genoma en vez de a un verdadero evento de entrecruzamiento, y se presenta con facilidad.

B. Reactivación genética

Este fenómeno representa un caso especial de recombinación.

El rescate de marcador se da entre el genoma de un virión activo y el genoma de una partícula viral que de alguna manera se ha inactivado. Una porción del genoma del virus inactivado se recombina con la del progenitor activo de modo que ciertos marcadores del progenitor inactivado se rescatan y aparecen en la progenie viable. Ninguno de los elementos de la progenie producida son idénticos al progenitor inactivado. La progenie portadora de los marcadores rescatados del progenitor inactivado es estable genéticamente.

La reactivación múltiple se presenta cuando muchas partículas virales inactivas interactúan en la misma célula para generar un virus viable. Esto puede ocurrir cuando una preparación viral muy dañada se emplea para infectar células con infección de elevada multiplicidad. La recombinación tiene lugar entre los ácidos nucleicos dañados de los progenitores y produce un genoma viable capaz de replicarse. Cuanto mayor es el daño de los genomas progenitores, mayor el número de partículas inactivas necesarias por célula para asegurar la formación de un genoma viable.

C. Complementación

Se refiere a la interacción de los productos génicos virales en las células infectadas con dos virus, uno de los cuales, o ambos, pueden ser defectuosos. El resultado es la replicación de uno o ambos virus bajo condiciones en las cuales ordinariamente no hay replicación. La base de la complementación es que uno de los virus suministra un producto génico del cual carece el segundo y permite así que el segundo virus crezca. Los genotipos de ambos virus permanecen sin cambio.

Si ambos mutantes carecen del mismo producto génico no podrán complementarse entre sí para crecer. Por tanto, esta prueba se emplea de manera rutinaria para agrupar

mutantes mortales condicionales de un virus como paso previo de un análisis bioquímico detallado de las funciones del gen representadas por los mutantes.

D. Mezcla de fenotipos

Un caso especial de complementación es la mezcla fenotípica, o reunión de un genotipo con un fenotipo heterólogo. Esto se presenta cuando el genoma de un virus se incorpora al azar a las proteínas de la cápside especificadas por un virus diferente, o a una cápside que contiene elementos de ambos virus. Cuando el genoma es encerrado en una cubierta de proteínas completamente heterólogas es un ejemplo extremo de mezcla fenotípica que se puede denominar "enmascaramiento fenotípico" o "transcapsidación". Esta mezcla no es un cambio genético estable, debido a que una vez replicado el progenitor fenotípicamente mezclado produce una progenie encerrada en cápsides homólogas al genotipo.

La mezcla fenotípica generalmente tiene lugar entre diferentes miembros de la misma familia de virus; las proteínas entremezcladas de la cápside deben poder interactuar de manera correcta para ensamblar una cápside estructuralmente intacta. Sin embargo, la mezcla fenotípica también puede darse entre virus con cubierta y, en este caso, los virus no tienen que estar estrechamente relacionados. La nucleocápside de un virus puede quedar encerrada en una envoltura especificada por otro, fenómeno designado como "formación de pseudotipo". Hay muchos ejemplos de formación de pseudotipo entre los virus con RNA tumorales (véase capítulo 43). La nucleocápside del virus de la estomatitis vesicular, un rhabdovirus, muestra una tendencia poco común a participar en la formación de pseudotipo con material de la cubierta no relacionado.

E. Interferencia

La infección de células en cultivo o de animales íntegros con dos virus casi siempre inhibe la multiplicación de uno de los virus, efecto denominado interferencia. En los animales, la interferencia es distinta de la inmunidad específica. Además, la interferencia no se presenta con todas las combinaciones virales; dos virus pueden infectar y multiplicarse dentro de la misma célula de manera tan eficiente como en infecciones únicas.

Se han dilucidado varios mecanismos causantes de interferencia: 1) un virus puede inhibir la capacidad del segundo para adsorberse a la célula, ya sea por bloqueo de sus receptores (retrovirus, enterovirus) o por destrucción de sus receptores (ortomixovirus); 2) un virus puede competir con el segundo por elementos del aparato de replicación (p. ej., polimerasa, factor de inicio de la traducción); 3) el primer virus puede obligar a la célula infectada a producir un inhibidor (interferón; véase capítulo 30), el cual evita la replicación del segundo virus.

Genomas virales como vectores

A. DNA recombinante

La tecnología del DNA recombinante ha revolucionado la producción de materiales biológicos, hormonas, vacunas, interferón y otros productos génicos. Mediante ingeniería genética se pueden manipular genomas virales para emplearlos como vectores de replicación y expresión de genes vira-

les y celulares. Casi cualquier virus puede convertirse en un vector si se conoce lo suficiente acerca de sus funciones de replicación, controles de transcripción y señales de empacamiento. La tecnología de vectores virales se basa en virus de DNA (SV40, parvovirus, papilomavirus bovino, adenovirus, herpesvirus, virus vaccinia) y virus de RNA (poliovirus, virus de Sindbis, retrovirus). Cada sistema tiene sus propias ventajas y desventajas.

Los vectores típicos de expresión eucariótica contienen elementos virales reguladores (promotores o amplificadores), que controlan la transcripción del gen clonado deseado situado en su proximidad, dan la señal para la terminación eficiente y la poliadenilación de los transcritos, y una secuencia intrónica limitada por los sitios donador y aceptor de *splicing*. Puede haber secuencias que amplifican la traducción o que afectan la expresión en un tipo particular de célula. Los principios de la tecnología del DNA recombinante se describen e ilustran en el capítulo 7. Esta técnica brinda la posibilidad de producir grandes cantidades de antígeno puro con el fin de elaborar una vacuna.

B. Transferencia génica mediada por virus en células de mamíferos

Si pudiéramos introducir información genética externa estable en eucariotes, tal vez se podrían reparar defectos genéticos. Por ejemplo, la galactosemia congénita podría corregirse al introducir el gen galactosidasa en las células del paciente. Hay resultados alentadores en algunos sistemas experimentales y se han iniciado estudios orientados a la reparación de genes humanos. También se realizan intentos de emplear la terapia génica para manipular células en pacientes con SIDA y hacerlos resistentes a la infección por el VIH. También se intenta desarrollar el tratamiento con terapia génica para el cáncer.

La transferencia génica en bacterias puede lograrse mediante transformación, transducción por fago y conjugación (véase capítulo 7). En los eucariotes se ha logrado la transferencia génica por transformación, microinyección y transfección de fragmentos del DNA o de genomas recombinantes. Una técnica en estudio para la terapia génica de los defectos genéticos humanos es el empleo de retrovirus defectuosos como vectores portadores de genes clonados para sustituir a los defectuosos. Con los retrovirus o con cualquier otro sistema vector, es difícil conducir el vector a las células blanco apropiadas en humanos, para alterar una gran fracción de las células blanco y a veces es impredecible la expresión del gen introducido. También hay problemas de posible incompatibilidad inmunitaria de los productos del nuevo gen, posible transferencia de genes indeseables junto con los deseados, efectos adversos debidos al sitio de integración del vector y alteraciones en la regulación de la expresión génica que pueden convertir al gen en nocivo.

HISTORIA NATURAL (ECOLOGÍA) Y MODOS DE TRANSMISIÓN DE LOS VIRUS

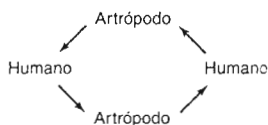
La ecología es el estudio de las interacciones entre organismos vivos y su entorno. Los diferentes virus han desarro-

llado mecanismos ingeniosos y con frecuencia complicados para sobrevivir en la naturaleza y transmitirse de un huésped al siguiente. El modo de transmisión empleado por un virus determinado depende de la naturaleza de la interacción entre el virus y el huésped.

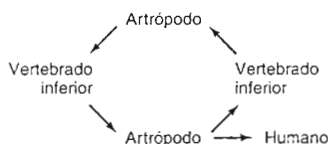
Los virus se pueden transmitir de las siguientes maneras: 1) transmisión directa de una persona a otra por contagio. El principal medio de transmisión puede ser por gotitas o aerosol infectante (p. ej., influenza, sarampión, viruela); por vía fecal-oral (p. ej., enterovirus, rotavirus, hepatitis infecciosa A); por contacto sexual (p. ej., hepatitis B, herpes simple tipo 2, virus de la inmunodeficiencia humana); por contacto mano-boca, mano-ojo, o boca-boca (p. ej., herpes simple, rinovirus, virus de Epstein-Barr); o por intercambio de sangre contaminada (p. ej., hepatitis B, VIH). 2) Transmisión de un animal a otro con el ser humano como huésped accidental. La propagación puede ser por mordedura (rabia) o por gotitas o aerosol infectantes en sitios contaminados por roedores (p. ej., arnavirus, hantavirus). 3) Transmisión por medio de un vector artrópodo (p. ej., arbovirus, clasificado en la actualidad principalmente como togavirus, flavivirus y bunyavirus).

Al menos se han reconocido tres diferentes patrones de transmisión de los virus transmitidos por artrópodos:

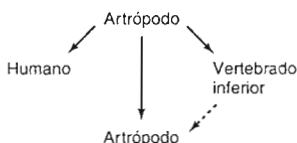
- 1) Ciclo humano-artrópodo. Ejemplos: fiebre amarilla urbana, dengue.



- 2) Ciclo vertebrado inferior-artrópodo con infección colateral al hombre. Ejemplos: fiebre amarilla selvática, encefalitis de San Luis. El humano infectado es un huésped "final". Este es el mecanismo de transmisión más común.



- 3) Ciclo artrópodo-artrópodo con infección ocasional de humanos y vertebrados inferiores. Ejemplos: fiebre de Colorado por garrapata, encefalitis de LaCrosse.



En este ciclo el virus puede transmitirse del artrópodo adulto a sus crías a través de los huevos (paso transovario); por tanto, el ciclo puede continuar con o sin intervención de un huésped vertebrado virémico.

En los vertebrados, la invasión por casi cualquier virus produce una reacción violenta generalmente de corta duración. El resultado es decisivo. El huésped puede sucumbir o vivir mediante la producción de anticuerpos que neutralicen el virus. Cualquiera que sea el resultado, la permanencia del virus activo generalmente es breve, aunque también pueden presentarse infecciones persistentes o latentes que duran meses o años (hepatitis B, herpes simple, citomegalovirus, retrovirus). En los vectores artrópodos de los virus la interrelación generalmente es muy diferente. Los virus producen pocos o nulos efectos y permanecen activos en el artrópodo durante la vida natural de éste. Así, los artrópodos, al contrario de los vertebrados, actúan como huéspedes permanentes y reservorios.

Enfermedades virales emergentes

Debido a los notables cambios en las costumbres y hábitos sociales, tecnológicas y ambientales (además de la mínima eficacia de las técnicas previas para el control de enfermedades), en la actualidad se encuentra en expansión la diversidad de las enfermedades infecciosas. Aparecen nuevos agentes, y enfermedades que una vez se pensó estaban bajo control aumentan su incidencia conforme los patógenos evolucionan y se propagan. El término "enfermedades infecciosas emergentes" denota estos fenómenos.

Las enfermedades virales que han surgido siguen uno de tres patrones generales: identificación de un agente nuevo, incremento brusco en los casos de una enfermedad causada por un agente endémico e invasión de una nueva población de huéspedes.

La combinación de estos factores contribuye al surgimiento de una enfermedad. Algunos factores aumentan la exposición del ser humano a patógenos alguna vez dudosos: otros favorecen la diseminación de infecciones antes localizadas; y todavía otros determinan cambios en las propiedades del virus o en la respuesta del huésped a la infección. Estos factores incluyen: 1) cambios ambientales (deforestación, construcción de presas u otros cambios en los ecosistemas hídricos, inundaciones o sequía, hambruna); 2) conducta humana (conducta sexual, uso de drogas, recreación a la intemperie); 3) fenómenos socioeconómicos y demográficos (guerra, pobreza, crecimiento de la población y migración, depauperación urbana); 4) viajes y comercio (autopistas, viajes aéreos internacionales); 5) producción de alimentos (globalización de los suministros alimentarios, cambios en los métodos de procesamiento y empaque de alimentos); 6) cuidado de la salud (nuevos dispositivos médicos, transfusiones sanguíneas, trasplantes de órganos y tejidos, fármacos causantes de inmunosupresión, uso extendido de antibióticos); 7) adaptación microbiana (cambios en la virulencia, desarrollo de resistencia a fármacos, cofactores en las enfermedades crónicas); y 8) medidas de salud pública (medidas sanitarias y de control de vectores inadecuadas, recorte de los programas de prevención, carencia de personal entrenado en número suficiente).

Ejemplos recientes de infecciones virales emergentes en diferentes regiones del mundo incluyen el virus de Ébola, la enfermedad pulmonar por hantavirus, infección por VIH, dengue hemorrágico, fiebre de Lassa, fiebre del valle Rift y encefalopatía espongiforme bovina.

También es causa de preocupación el empleo de órganos de animales como xenoinjertos en humanos. Debido a que el número disponible de donadores de órganos humanos no puede satisfacer las necesidades de todos los pacientes en espera, los xenotrasplantes de primates diferentes al humano y de órganos de cerdo se consideran como una alternativa. Existe temor acerca de la posible introducción accidental en humanos de nuevos patógenos virales procedentes de las especies donadoras.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Algunos virus se caracterizan por simetría helicoidal del nucleocápside viral. ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca de los virus con simetría helicoidal es más precisa?
 - Los virus envueltos con simetría helicoidal se clasifican en la misma familia de virus
 - Los nucleocápsides helicoidales se encuentran sobre todo en virus que contienen DNA
 - Los virus humanos con nucleocápsides helicoidales poseen una envoltura
 - Partículas helicoidales vacías en exceso que no contienen ácido nucleico se producen por lo común en células infectadas
- Las células infectadas con virus suelen presentar cambios morfológicos conocidos como efectos citopáticos. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones acerca de los cambios citopáticos inducidos por virus es más precisa?
 - Son patognomónicos para un virus infeccioso
 - Rara vez se relacionan con muerte celular
 - Podrían incluir formación de células gigantes
 - Sólo se ven con un microscopio electrónico
 - Todas las anteriores
- Los virus por lo común inician la infección al interactuar primero con receptores en la superficie de las células. ¿Cuál de las siguientes declaraciones acerca de los receptores celulares para los virus es más precisa?
 - Los receptores celulares para virus no tienen función celular conocida
 - Todos los virus dentro de una familia determinada usan el mismo receptor celular
 - Todas las células en un huésped susceptible expresarán el receptor viral
 - La infección exitosa de una célula por un virus podría tener relación con la interacción con más de un tipo de receptor
- ¿Qué se puede usar para cuantificar virus humanos conocidos?
 - Estudio de placa en células de mamífero
 - Microscopio electrónico
 - Hemaglutinación
 - Reacción en cadena de la polimerasa
 - Inmunoensayo enzimático
 - Todo lo anterior
- ¿Cuál de las siguientes declaraciones expresa un principio en relación con el ácido nucleico viral?
 - Los virus contienen RNA y DNA
 - Algunos virus contienen un genoma segmentado

- C. Normalmente el ácido nucleico viral purificado de algún virus es infeccioso
- D. El tamaño del genoma viral es similar entre los virus humanos conocidos
6. Se aislaron dos mutantes de poliovirus, uno (MutX) con una mutación en el gen X y el segundo (MutY) con una mutación en el gen Y. Si se infectan las células con cada mutante solo, no se produce ningún virus. Si se coinfecta una célula con MutX y MutY, ¿qué es más probable que suceda?:
- A. Podría suceder la reclasificación de segmentos genómicos y dar lugar a virus naturales viables
- B. Los genomas podrían transcribir de manera inversa al DNA y producir virus MutX y MutY
- C. Podría tener lugar la complementación entre productos génicos mutantes y se producirían virus MutX y MutY
- D. Las células se transforman a frecuencia alta, cuando los mutantes de poliovirus no las eliminan
7. ¿Cuál de los siguientes virus poseen un genoma de RNA que es infeccioso cuando se purifica?:
- A. Virus de influenza
- B. Poliovirus
- C. Papilomavirus
- D. Virus de sarampión
- E. Rotavirus
8. ¿A cuál de los siguientes grupos pertenecen los virus con probabilidades de establecer infecciones latentes?:
- A. Poxvirus
- B. Filovirus
- C. Herpesvirus
- D. Virus de influenza
- E. Calicivirus
9. Algunos virus codifican una polimerasa de RNA dependiente de RNA viral. ¿Cuál de los siguientes enunciados expresa un principio acerca de las polimerasas de RNA viral?:
- A. Los virus de RNA llevan moléculas de polimerasa de RNA dentro de partículas de virus cuando se necesitan para iniciar el siguiente ciclo infeccioso
- B. Los anticuerpos contra la polimerasa de RNA viral neutralizan la infectividad del virus
- C. Los virus de RNA de cadena negativa suministran su propia polimerasa de RNA dependiente de RNA como eucariontes que carecen de estas enzimas
- D. La proteína de polimerasa de RNA viral también sirve como proteína estructural del núcleo principal en la partícula de virus

Respuestas: 1 = C; 2 = C; 3 = D; 4 = F; 5 = B; 6 = C; 7 = B; 8 = C; 9 = C

REFERENCIAS

- Chiu W, Burnett RM, Garcea RL (editors): *Structural Biology of Viruses*. Oxford Univ Press, 1997.
- Guideline for hand hygiene in health-care settings. Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HIC PAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force. Society for Health care Epidemiology of America/Association for Professionals in Infection Control/Infectious Diseases Society of America. MMWR Recomm Rep 2002;51(RR-16):1.
- Knipe DM *et al.* (editors): *Fields Virology*. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Nathanson N: The emergence of infectious diseases: Societal causes and consequences. ASM News 1997;63:83.
- Preventing emerging infectious diseases: a strategy for the 21st century. Overview of the update CDC plan. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1998;47(RR-15):1
- U.S. Public Health Service guideline on infectious disease issues in xenotransplantation. Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Recomm Rep 2001;50(RR-15):1.
- van Regenmortel MHV *et al.* (editors): *Virus taxonomy: Classification and nomenclature of viruses*. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, 2000.

Patogenia y control de enfermedades virales

CONCEPTOS BÁSICOS DE LAS ENFERMEDADES VIRALES

En la infección viral, el proceso fundamental es la expresión del ciclo replicativo del virus (parcial o completo) en una célula huésped. La respuesta celular a esa infección puede variar desde un efecto que no sea evidente hasta la citopatología celular con la muerte consecuente a hiperplasia o cáncer.

La enfermedad viral es la expresión de alguna anomalía en el organismo huésped, resultante de infección por virus. En el huésped, la enfermedad clínica consiste en signos y síntomas declarados. Un síndrome es un grupo específico de signos y síntomas. Se dice que las infecciones virales que no producen síntomas en el huésped no son evidentes (subclínicas). En realidad, la mayor parte de las infecciones virales no causan enfermedad (figura 30-1).

Los siguientes son principios importantes en las enfermedades virales: 1) muchas infecciones virales son subclínicas; 2) la misma enfermedad puede ser producida por varios virus; 3) el mismo virus puede producir varias enfermedades; 4) la enfermedad producida no muestra interrelación con la morfología del virus; 5) la evolución, en cualquier caso particular, está determinada por la interacción del virus y el huésped, y está influida por los rasgos genéticos de cada uno.

Patogenia viral se refiere a la interacción entre los factores virales y los del huésped, que conduce a las manifestaciones de la enfermedad. Un virus es **patógeno** para un huésped particular si puede infectar y causar signos de enfermedad en dicho huésped. Una cepa de cierto virus es más **virulenta** que otra si produce enfermedad más grave en un huésped en el cual ambas cepas son patógenas. No debe confundirse la virulencia del virus en animal íntegro con citopatogenicidad en células cultivadas; virus altamente citocidas *in vitro* pueden ser inofensivos *in vivo*, y al contrario, virus no citocidas pueden causar enfermedades graves.

En el cuadro 30-1 se comparan características importantes de dos categorías generales de enfermedades virales agudas (locales y sistémicas).

PATOGENIA DE LAS ENFERMEDADES VIRALES

Para causar enfermedad, los virus deben penetrar al huésped, ponerse en contacto con células susceptibles, replicarse y producir lesión celular. El conocimiento de la patogenia viral y el nivel molecular es necesario para diseñar estrategias antivirales eficaces y específicas. Gran parte del conocimiento de la patogenia viral se basa en modelos animales, puesto que estos sistemas pueden manipularse y estudiarse fácilmente.

Etapas de la patogenia viral

Las etapas específicas implicadas en la patogenia viral son las siguientes: penetración del virus en el huésped, replicación viral primaria, diseminación viral, lesión celular, respuesta inmunitaria del huésped, eliminación del virus o establecimiento de una infección persistente, y propagación del virus.

A. Entrada y replicación primaria

Para que se presente una infección en el huésped, el virus, primero debe adherirse a las células y penetrar en ellas en alguna de las superficies del cuerpo: piel, aparatos respiratorio, gastrointestinal y urogenital, o conjuntiva. La mayor parte de los virus penetran al huésped a través de las mucosas de las vías respiratoria o gastrointestinal (cuadro 30-2). Las principales excepciones son los virus introducidos de manera directa en el torrente sanguíneo por agujas (hepatitis B, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)), transfusión sanguínea o por insectos vectores (arbovirus).

Por lo general, los virus se replican en el sitio primario de entrada. Algunos, como los virus de la influenza (infecciones respiratorias) y los rotavirus (infecciones gastrointestinales), producen enfermedad en la puerta de entrada y no necesitan diseminación sistémica adicional. Estos virus se propagan de modo local sobre las superficies epiteliales, pero no invaden los tejidos subyacentes ni se diseminan a sitios distantes.



Figura 30-1. Tipos de huésped y respuesta celular a la infección por virus. (Modificado con autorización de Evans AS: Epidemiological concepts. In: Evans AS, Brachman PS [editors]. *Bacterial Infections of Humans*, 2nd ed. Plenum, 1991.)

B. Propagación viral y tropismo celular

Muchos virus producen enfermedad en sitios distantes del punto de entrada (p. ej., los enterovirus que entran por el aparato gastrointestinal, pero producen enfermedad en el sistema nervioso central). Luego de la replicación primaria en el sitio de entrada, estos virus se diseminan dentro del huésped (figura 30-2) mediante diversos mecanismos, pero la ruta más común es el torrente sanguíneo o los linfáticos. La presencia de virus en la sangre se denomina viremia. Los viriones pueden permanecer libres en el plasma (p. ej., enterovirus, togavirus) o relacionarse con un tipo particular de célula (p. ej., virus del sarampión: cuadro 30-3). Algunos virus incluso se multiplican dentro de ellas. En muchas infecciones virales la fase vírémica es breve. A veces hay diseminación neuronal; al parecer, el virus de la rabia sigue esta vía para llegar al cerebro y causar enfermedad, y el

virus del herpes simple también se desplaza por los nervios hacia los ganglios neuronales para iniciar infección latente.

Los virus tienden a presentar especificidad para órganos y células. Este tropismo de los virus para determinadas células y tejidos generalmente refleja la presencia de receptores específicos en la superficie celular para dichos virus. Los receptores son componentes de la superficie celular con los cuales puede interactuar específicamente una región de la superficie viral (cápside o envoltura) para iniciar la infección. Los receptores son elementos celulares que participan en el metabolismo celular normal, pero también presentan afinidad para un virus particular. En la mayor parte de los casos se desconoce la naturaleza química de los receptores virales.

Los factores que afectan la expresión génica viral son determinantes importantes de tropismo celular. Las regiones amplificadoras con algún tipo de especificidad celular pueden regular la transcripción de los genes virales. Por ejemplo, el amplificador del poliovirus JC es mucho más activo en células gliales que en otros tipos de célula.

Otro mecanismo que gobierna el tropismo tisular implica enzimas proteolíticas. Ciertos paramixovirus no son infectantes mientras una glucoproteína de la envoltura no sufra desdoblamiento proteolítico. En tejidos que no expresan las enzimas activantes apropiadas no tienen lugar los múltiples ciclos de replicación viral.

Genes virales específicos pueden determinar, en parte, la diseminación del virus. Estudios con reovirus demuestran que la magnitud de la diseminación desde el aparato gastrointestinal se determina por una de las proteínas externas de la cápside.

C. Lesión celular y enfermedad clínica

La destrucción de las células infectadas por el virus en los tejidos blanco (*target*) y la alteración fisiológica producida

Cuadro 30-1. Características importantes de las enfermedades virales agudas

	Infecciones locales	Infecciones sistémicas
Ejemplo de enfermedad específica	Respiratoria (rinovirus)	Sarampión
Sitio de la patología	Puerta de entrada	Sitio distante
Período de incubación	Relativamente breve	Relativamente prolongado
Viremia	Ausente	Presente
Duración de la inmunidad	Variable; puede ser breve	Por lo general, para toda la vida
Función de los anticuerpos secretorios (IgA) en la resistencia	Generalmente importante	En general no es importante

Cuadro 30-2. Rutas comunes de infección viral en humanos

Puerta de entrada	Grupo de virus	Produce síntomas locales en el sitio de entrada	Produce infección generalizada y además enfermedad en órganos específicos
Vías respiratorias	Parvovirus		B19
	Adenovirus	La mayor parte de las especies	
	Herpesvirus	Virus de Epstein-Barr, virus del herpes simple	Virus de la varicela
	Poxvirus		Virus de la viruela (erradicado)
	Picornavirus	Rinovirus	Algunos enterovirus
	Togavirus		Virus de la rubéola
	Coronavirus	La mayor parte de las especies	
	Ortomixovirus	Virus de la influenza	
	Paramixovirus	Virus parainfluenza, virus sincital respiratorio	Virus de la parotiditis, virus del sarampión
Boca, intestino	Adenovirus	Algunas especies	
	Herpesvirus	Virus de Epstein-Barr, virus del herpes simple	Citomegalovirus
	Picornavirus		Algunos enterovirus, incluso poliovirus y virus de la hepatitis A
	Reovirus	Rotavirus	
Piel Traumatismo leve	Papilomavirus	La mayor parte de las especies	
	Herpesvirus	Virus del herpes simple	
	Poxvirus	Virus del molusco contagioso, virus orf	
Inyección	Hepadnavirus		Hepatitis B
	Herpesvirus		Virus de Epstein-Barr, citomegalovirus
	Retrovirus		Virus de la inmunodeficiencia humana
Mordeduras	Togavirus		Muchas especies, incluso virus de la encefalitis equina oriental
	Flavivirus		Muchas especies, incluso virus de la fiebre amarilla
	Rabdo virus		Virus de la rabia

en el huésped por la lesión tisular son parcialmente causantes del desarrollo de la enfermedad. Algunos tejidos (como el epitelio intestinal) se regeneran con rapidez y soportan daño extenso mejor que otros, como el cerebro. El daño no mortal de funciones especializadas de las células, como el cese de la producción de hormona, puede producir efectos fisiológicos. La enfermedad clínica por infección viral es resultado de una compleja serie de eventos, y se desconocen muchos de los factores que determinan el grado de enfermedad. Los síntomas generales relacionados con muchas infecciones virales, como mal estado general y anorexia, pueden ser consecuencia de los elementos que constituyen la respuesta del huésped como es la producción de citocinas. La enfermedad clínica es un indicador poco sensible

de la infección viral: son muy comunes las infecciones inaparentes por virus.

D. Recuperación de la infección

El huésped puede sucumbir o recuperarse de la infección viral. Los mecanismos de recuperación implican inmunidad humoral y mediada por células, interferón y otras citocinas, y posiblemente otros factores de defensa del huésped. La importancia relativa de cada componente difiere con el virus y la enfermedad.

La importancia de los factores del huésped que influyen en el resultado de las infecciones virales se ilustra por un incidente ocurrido en el decenio de 1940-49, en el cual 45 000 militares fueron inoculados con una vacuna contra

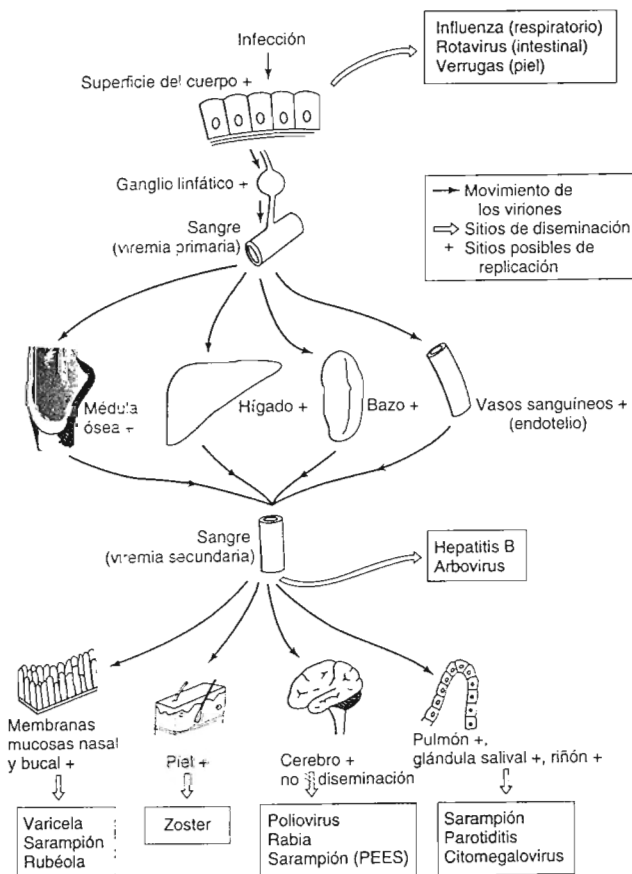


Figura 30-2. Mecanismos de diseminación del virus a través del cuerpo en infecciones virales humanas. + indica posibles sitios de replicación viral; las flechas gruesas indican sitios de diseminación de los virus, con ejemplos ilustrativos de enfermedades en las cuales esta ruta de excreción es importante. En ciertas infecciones por arbovirus la transferencia mediante sangre tiene lugar por picadura de mosquito, o por transfusión en la hepatitis. (Modificado y reproducido con autorización de Mims CA, White DO: *Viral Pathogenesis and Immunology*. Blackwell, 1984.)

el virus de la fiebre amarilla contaminada con virus de la hepatitis B. Aunque todos los militares presuntamente fueron sometidos a exposición comparable, la hepatitis clínica sólo se presentó en 2% (914 casos), y de éstos sólo 4% desarrolló enfermedad grave.

En la infección aguda, la recuperación se acompaña de la eliminación del virus. Sin embargo, el huésped a veces permanece infectado con el virus de manera persistente. Estas infecciones a largo plazo se describen adelante.

E. Propagación del virus

La última etapa de la patogenia es la propagación del virus infeccioso en el ambiente. Éste es un paso necesario para man-

tener una infección viral en las poblaciones de huéspedes. La propagación suele presentarse a partir de las superficies del cuerpo implicadas en la entrada del virus (figura 30-2) y en diferentes etapas de la enfermedad, según el agente particular implicado. Representa el momento en el cual un individuo infectado es infectante por contacto. En algunas infecciones virales (como la rabia), la infección del humano finaliza con la muerte de éste, y no hay propagación del virus.

Respuesta inmunitaria del huésped

Los mecanismos inespecíficos de defensa del huésped son requeridos muy pronto después de la infección viral. La

Cuadro 30-3. Diseminación viral por el torrente sanguíneo¹

Tipo de célula relacionada	Ejemplos	
	Virus de DNA	Virus de RNA
Linfocitos	Virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, virus de la hepatitis B, virus JC, virus BK	Virus de la parotiditis, sarampión, rubéola, inmunodeficiencia humana
Monocitos macrófagos	Citomegalovirus	Poliovirus, virus de la inmunodeficiencia humana y del sarampión.
Neutrófilos		Influenza
Eritrocitos	Parvovirus B19	Virus de la fiebre por garrapata de Colorado
Ninguno (libres en el plasma)		Togavirus, picornavirus

¹ Modificado de Tyler KL, Fields BN: Pathogenesis of viral infections. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. (editors). Lippincott-Raven, 1996

más sobresaliente entre las respuestas "no inmunes" es la inducción de interferones (véase después). Estas respuestas ayudan a inhibir el desarrollo viral durante el tiempo que toma inducir inmunidad humoral específica y mediada por células.

En el control de las infecciones virales participan los componentes humoral y celular de la respuesta inmunitaria. Los virus inducen en los tejidos una respuesta diferente de la respuesta contra las bacterias patógenas. En tanto que los leucocitos polimorfonucleares generan la principal respuesta celular a una inflamación aguda causada por bacterias piógenas, la infiltración con células mononucleares y linfocitos caracteriza la reacción inflamatoria de lesiones virales no complicadas.

Las proteínas codificadas por el virus son el blanco de la respuesta inmunitaria. Las células infectadas por virus pueden sufrir lisis por parte de los linfocitos T citotóxicos como resultado de la identificación de polipéptidos virales sobre la superficie celular. La inmunidad humoral protege al huésped contra la reinfección por el mismo virus. Los anticuerpos neutralizantes dirigidos contra las cápsides de proteínas bloquean el inicio de la infección viral, tal vez en la etapa de adhesión o pérdida de la cubierta. El anticuerpo secretorio IgA es importante para proteger contra la infección viral en las vías respiratoria o gastrointestinal.

Las características especiales de ciertos virus pueden tener efectos profundos sobre la respuesta inmunitaria del huésped. Algunos virus infectan y dañan las células del sistema inmunitario. El ejemplo más espectacular son los retrovirus vinculados con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), los cuales infectan los linfocitos T y destruyen su capacidad funcional (véase capítulo 44).

En humanos inmunizados con vacunas a base de virus de sarampión o sincitial respiratorio muertos (descontinuadas en la actualidad) se observó otro tipo de trastorno in-

munopatológico. Pocas personas desarrollaron una respuesta inmunitaria poco frecuente que causó consecuencias graves cuando posteriormente se expusieron al virus infectante presente en la naturaleza. El síndrome de choque en el dengue hemorrágico, que aparece en personas con al menos una infección previa con otro serotipo de dengue, puede ser una manifestación que se presenta naturalmente del mismo tipo de inmunopatología.

Otro posible efecto adverso de la respuesta inmunitaria es el desarrollo de autoanticuerpos. Si un antígeno viral induce la formación de anticuerpos que de manera fortuita reconocen un determinante antigénico en una proteína celular de tejidos normales, se pueden producir lesión celular o pérdida de función no relacionadas con la infección viral. En la actualidad se desconoce la magnitud de este posible problema en la enfermedad humana.

A través de la evolución, los virus han desarrollado varias maneras de suprimir o evadir la respuesta inmunitaria del huésped y así impedir su erradicación. Con frecuencia, las proteínas virales implicadas en la modulación de la respuesta del huésped no son indispensables para el crecimiento del virus en un cultivo de tejidos y sus propiedades sólo se manifiestan en estudios de patogenia experimental practicados en animales. Pueden infectar las células del sistema inmunitario y anular su función (VIH), o infectar neuronas que expresan poco o nada de MHC clase I (herpesvirus), o codificar proteínas inmunomoduladoras que inhiben la función del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) (adenovirus). Los virus pueden mutar y cambiar los sitios antigénicos en las proteínas del virión (virus de la influenza), o regular a la baja el grado de expresión de las proteínas de la superficie celular viral (herpesvirus).

Comparación de la patogenia entre una enfermedad viral cutánea y del sistema nervioso central

En la figura 30-3 se esquematiza la patogenia de la viruela murina (una enfermedad de la piel) y la patogenia de la poliomielitis humana (una enfermedad del sistema nervioso central). Ambos virus se multiplican en el sitio primario de entrada antes de diseminarse hacia órganos específicos por vía sistémica.

En la viruela murina el virus penetra al cuerpo a través de fisuras mínimas de la piel y se multiplica en las células epidérmicas. Al mismo tiempo, la linfa de los vasos linfáticos lo transporta a los ganglios linfáticos regionales donde también se multiplica. Los macrófagos del hígado y del bazo captan las pocas partículas virales que penetran a la sangre a través de linfáticos eferentes. En ambos órganos los virus se multiplican con rapidez. El virus, luego de liberarse del hígado y el bazo, se desplaza por el torrente sanguíneo y se localiza en las capas epidérmicas basales de la piel, en las células de la conjuntiva y en la proximidad de los folículos linfáticos del intestino. En ocasiones los virus también pueden localizarse en las células epiteliales de riñón, pulmón, glándula submaxilar y páncreas. En el sitio de entrada del virus se produce una lesión primaria. Ésta se presenta como una inflamación localizada que crece con rapidez, se edematiza y ulcera, y evoluciona para formar cicatriz. Sigue

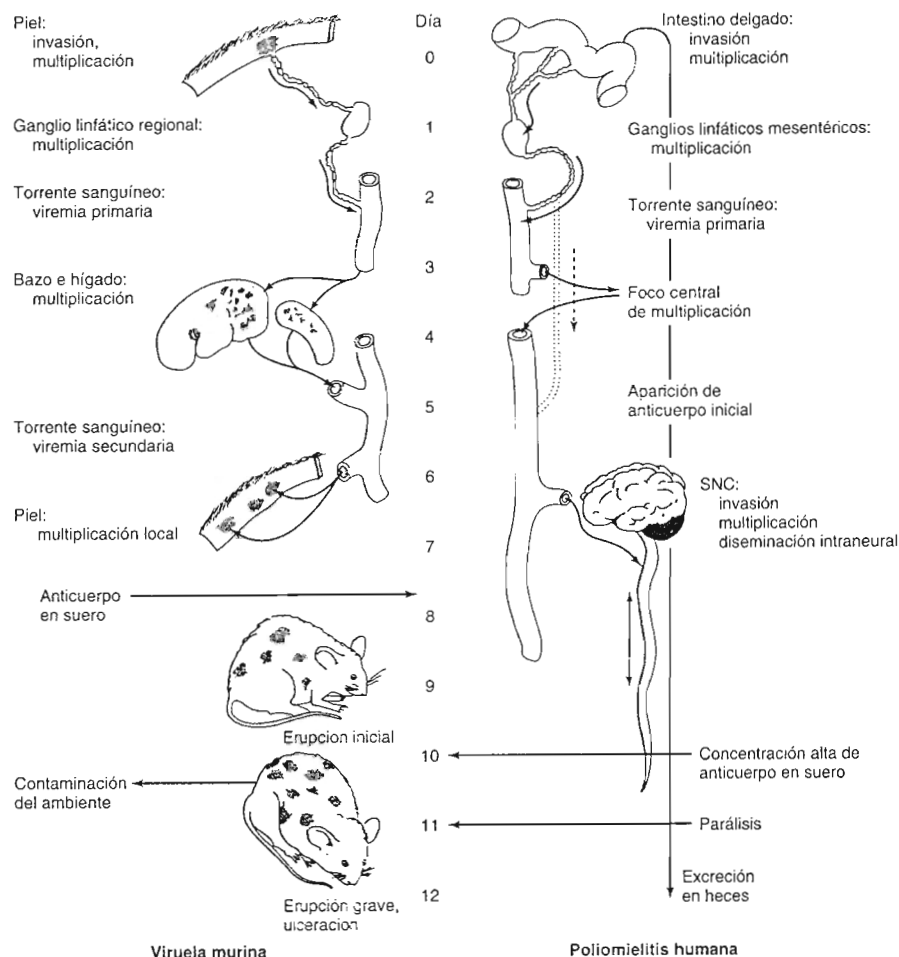


Figura 30-3. Ilustraciones esquemáticas de la patogenia de la viruela murina y de la poliomielitis. (Modificado de F. Fenner.)

una erupción generalizada que es la responsable de la liberación de grandes cantidades de virus al ambiente.

En la poliomielitis, el virus entra por el aparato digestivo, se multiplica localmente en los sitios de implantación inicial del virus (amígdalas, placas de Peyer) o en los ganglios linfáticos que drenan estos tejidos, y comienza a aparecer en faringe y heces. A través del torrente sanguíneo hay una diseminación viral secundaria hacia otros tejidos susceptibles —específicamente, otros ganglios linfáticos, grasa parda y el sistema nervioso central—. En el sistema nervioso central los virus se diseminan a lo largo de las fibras nerviosas. En caso de replicación excesiva, a medida que el virus se propaga por

el sistema nervioso central, las neuronas motoras se destruyen y se presenta parálisis. La propagación del virus al ambiente no depende de la diseminación viral secundaria hacia el sistema nervioso central. La diseminación al sistema nervioso central puede interrumpirse con facilidad por la presencia de anticuerpos inducidos por infección previa o vacunación.

Persistencia viral: infección por virus crónica y latente

Las infecciones virales generalmente son autolimitadas. Sin embargo, el virus persiste a veces bastante tiempo en el

huésped. La interacción a largo plazo entre el virus y el huésped puede adoptar varias modalidades. **Infección crónica**, en la cual el virus puede detectarse continuamente, en general en poca cantidad, y pueden observarse síntomas leves o ausencia de síntomas clínicos. En la **infección latente** el virus persiste de manera oculta o críptica la mayor parte del tiempo. La enfermedad clínica aparece en brotes intermitentes, durante los cuales se puede aislar virus infectante. La **infección inevidente o subclínica** es aquella que no manifiesta signos declarados de su presencia.

Las infecciones crónicas se presentan con algunos virus animales y en ciertos casos la persistencia depende de la edad del huésped cuando contrajo la infección. Por ejemplo, en humanos, las infecciones por el virus de la rubéola y por citomegalovirus contraídas *in utero* suelen producir persistencia viral de duración limitada, tal vez porque conforme el lactante madura desarrolla la capacidad inmunitaria para reaccionar contra la infección. Los lactantes infectados con virus de la hepatitis B frecuentemente presentan infección persistente (portadores crónicos); la mayoría de los portadores son asintomáticos (véase capítulo 35). En la infección crónica con virus de RNA, la población viral sufre muchos cambios genéticos y antigénicos.

Los herpesvirus, en general, producen infección latente. El virus del herpes simple penetra a los ganglios sen-

soriales y persiste en estado no infectante aún no comprendido a nivel molecular (figura 30-4). Puede haber reactivación periódica durante la cual aparecen lesiones que contienen virus infectante en sitios periféricos (p. ej., vesícula febril). El virus de la varicela (varicela zoster) también se encuentra latente en los ganglios sensoriales. Las recidivas son poco comunes y acontecen años más tarde, por lo general sobre el trayecto de un nervio periférico (zoster). Otros miembros de la familia herpesvirus también provocan infección latente, incluso citomegalovirus y virus de Epstein-Barr. Todos se reactivan cuando hay inmunosupresión. Por consiguiente, la infección por herpesvirus reactivada puede ser una complicación grave en personas a quienes se administra terapéutica inmunosupresora.

Las infecciones virales persistentes pueden desempeñar una función muy importante en la patología humana. Se les relaciona con ciertos tipos de cáncer en humanos (véase capítulo 43) y también con enfermedad degenerativa progresiva del sistema nervioso central (véase capítulo 42). En la figura 30-5 se presentan ejemplos de diferentes tipos de infección viral persistente.

Las encefalopatías espongiformes son un grupo de infecciones crónicas, progresivas y mortales del sistema nervioso central, causadas por agentes transmisibles no convencionales llamados priones (véase capítulo 42). Se

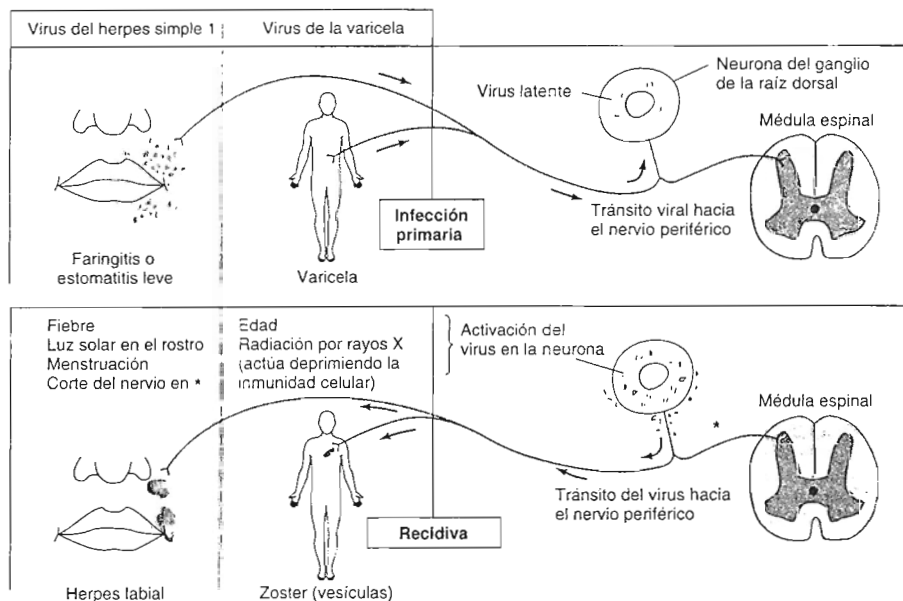


Figura 30-4. Infecciones latentes por herpes virus. Se muestran ejemplos de virus del herpes simple y virus de la varicela zoster. Las infecciones primarias tienen lugar en la infancia o adolescencia y van seguidas por el establecimiento de un virus latente en ganglios cerebrales o raquídeos. La activación posterior causa herpes simple o zoster recidivante. Las recidivas son poco comunes para el zoster. (Reproducido con autorización de Mims CA, White DO: *Viral Pathogenesis and Immunology*. Blackwell, 1984.)

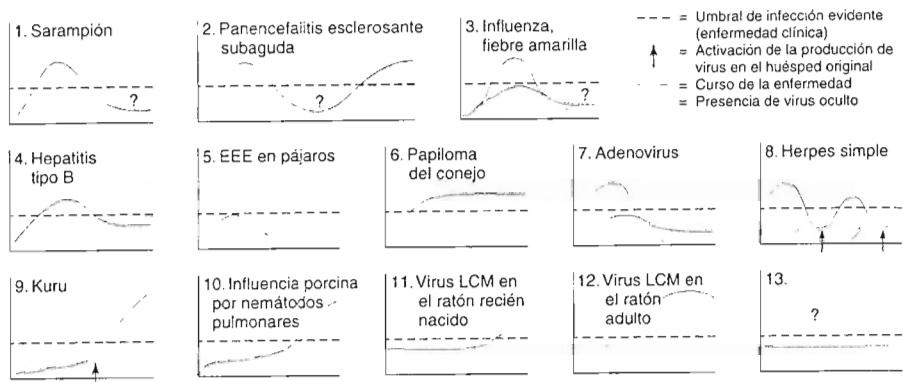


Figura 30-5. Diferentes tipos de interacción virus-huésped: evidente, inevidente, crónica, latente, oculta e infecciones por virus lentos. **1)** El sarampión sigue un curso agudo, casi siempre clínicamente evidente, que produce inmunidad persistente. **2)** El sarampión también puede ocasionar persistencia de la infección latente en forma de panencefalitis esclerosante subaguda (véase capítulo 40). **3)** La fiebre amarilla y la influenza siguen un patrón similar al del sarampión, excepto que la infección puede ser subclínica con mayor frecuencia que clínica. **4)** En la hepatitis viral tipo B, la recuperación de la enfermedad clínica puede acompañarse de infección crónica en la cual persiste virus totalmente activo en la sangre. **5)** En especies particulares algunas infecciones siempre son subclínicas, como la encefalomielititis equina oriental (EEE) en algunas especies de aves que pueden entonces actuar como reservorio del virus. **6)** En el papiloma del conejo el curso de la infección es crónico y en la cronicidad el virus se encuentra oculto. **7)** La infección de humanos con ciertos adenovirus puede ser clínica o subclínica. Existe una infección latente prolongada durante la cual el virus está presente en pequeña cantidad; los virus también pueden persistir después de la enfermedad. **8)** Con frecuencia, después de un episodio inicial agudo de estomatitis en la infancia se presenta activación periódica del virus latente del herpes simple, que en el ser humano puede recidivar a través de toda la vida. **9)** En muchos casos, la infección es totalmente latente durante periodos prolongados antes de ser activada. Ejemplos de estas infecciones con virus "lentos", caracterizadas por periodos largos de incubación, son el *scrapie* en la oveja y el kuru en humanos. **10)** En cerdos que ingieren virus contenidos en gusanos pulmonares, la "gripe" porcina es oculta en tanto un estímulo apropiado induce la producción viral y, a su vez, la enfermedad clínica. **11)** El virus de la coriomeningitis linfocítica (LCM) puede establecerse en el ratón por infección *in utero*. Se desarrolla una modalidad modificada de tolerancia inmunitaria en la cual las células T específicas para el virus no se activan. Se produce anticuerpo contra las proteínas virales; este anticuerpo y el virus circulante de la coriomeningitis linfocítica forman complejos antígeno-anticuerpo, que en último término producen una enfermedad por complejos inmunes en el huésped parcialmente tolerante. La presencia del virus de la coriomeningitis linfocítica en esta infección crónica (virus circulante con enfermedad escasa o nula) puede revelarse con facilidad mediante la transmisión a un huésped indicador, por ejemplo, ratón adulto de una reserva libre de virus. Todos los ratones adultos desarrollan síntomas agudos típicos de la coriomeningitis linfocítica y frecuentemente mueren (**12**). **13)** Se muestra la posibilidad de infección latente con un virus oculto que no se activa fácilmente. La prueba de la presencia de este virus permanece como una tarea difícil que, sin embargo, atrae la atención de los investigadores de cáncer (véase capítulo 43).

piensa que los priones no son virus. El mejor ejemplo de este tipo de infección por "virus lentos" es la encefalitis espongiiforme en la oveja (*scrapie*) y la encefalopatía espongiiforme bovina en el ganado (vacuno). El kuru y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob se presentan en humanos.

Revisión de las infecciones respiratorias virales agudas

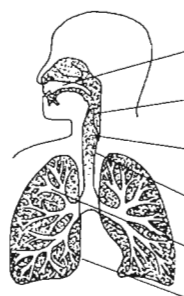
Muchos tipos de virus penetran al cuerpo humano a través de las vías respiratorias, principalmente en forma de gotas nebulizadas o saliva. Éste es el medio de entrada más frecuente del virus al huésped. La infección se desarrolla a pesar de los mecanismos protectores normales del huésped, que incluyen el moco que cubre la mayor parte de las superficies, la acción de los cilios, grupos de células linfoides,

macrófagos alveolares y la IgA secretoria. Muchas infecciones permanecen localizadas en las vías respiratorias, aunque algunos virus producen síntomas de enfermedad luego de la diseminación sistémica (p. ej., varicela, sarampión, rubéola; cuadro 30-2, figura 30-2).

Los síntomas de enfermedad dependen de si la infección se concentra en vías respiratorias superiores o inferiores (cuadro 30-4). El diagnóstico definitivo requiere aislar el virus o demostrar elevación del título de anticuerpos, pero con frecuencia se puede deducir la enfermedad viral específica al considerar los principales síntomas, edad del paciente, época del año y cualquier patrón de enfermedad presente en la comunidad.

La gravedad de la infección respiratoria puede variar desde inaparente hasta muy grave. Por lo general, la enfermedad más grave se observa en lactantes infectados con ciertos paramixovirus, y en ancianos o adultos enfermos crónicamente infectados con virus de la influenza.

Cuadro 30-4. Infecciones virales del aparato respiratorio



Síndromes	Síntomas principales	Causas virales más comunes		
		Lactantes	Niños	Adultos
Catarro común	Obstrucción y secreción nasales	Rino Adeno	Rino Adeno	Rino Corona
Faringitis	Malestar faríngeo	Adeno Herpes simple	Adeno Coxsackie	Adeno Coxsackie
Laringitis/crup	Ronquera, tos de "ladrillo"	Parainfluenza Influenza	Parainfluenza Influenza	Parainfluenza Influenza
Traqueobronquitis	Tos	Parainfluenza Influenza	Parainfluenza Influenza	Influenza Adeno
Bronquiolitis	Tos, disnea	Sincitial respiratorio Parainfluenza	Raro	Raro
Neumonía	Tos, dolor torácico	Sincitial respiratorio Influenza	Influenza Parainfluenza	Influenza Adeno

Revisión de infecciones virales del aparato gastrointestinal

Muchos virus inician la infección a través de las vías digestivas. Pocos agentes, como el virus del herpes simple y el virus de Epstein-Barr, pueden infectar las células bucales. En el intestino, los virus se exponen a elementos agresivos que participan en la digestión de los alimentos: ácidos, sales biliares (detergentes) y enzimas proteolíticas. En consecuencia, todos los virus capaces de iniciar la infección por esta ruta son resistentes a ácidos y sales biliares. En ocasiones también deben superar la IgA secretoria específica contra el virus, así como los inhibidores inespecíficos de la replicación viral.

El nombre de gastroenteritis aguda se aplica a la enfermedad gastrointestinal de corto plazo, con síntomas que varían desde diarrea acuosa leve hasta enfermedad febril grave caracterizada por vómito, diarrea y postración. Las principales causas de gastroenteritis son rotavirus, virus Norwalk y calicivirus. Los más afectados son lactantes y niños.

Algunos virus que producen infecciones entéricas utilizan proteasas del huésped para facilitar la infección. En general, la digestión proteolítica altera la cápside viral mediante la escisión parcial de una proteína de la superficie del virus, que a continuación favorece un evento específico, como la adhesión del virus o la fusión con la membrana.

Enterovirus, coronavirus y adenovirus también infectan el aparato gastrointestinal, pero estas infecciones en general son asintomáticas. Algunos enterovirus, notablemente poliovirus y virus de la hepatitis A, son importantes causas de enfermedad sistémica, pero no producen síntomas intestinales.

Revisión de infecciones virales cutáneas

Se estima que la piel es una barrera impermeable a la entrada de virus. Sin embargo, pocos virus son capaces de romper esta barrera e iniciar infección en el huésped (cuadro

30-2). Algunos logran penetrar a través de pequeñas heridas de la piel (poxvirus, papilomavirus, virus del herpes simple), otros se introducen por picadura de vectores artrópodos (arbovirus) o de huéspedes vertebrados infectados (virus de la rabia, virus de herpes B), y otros más se inyectan durante una transfusión sanguínea u otras manipulaciones que implican agujas contaminadas, como acupuntura y tatuaje (virus de la hepatitis B, VIH).

Pocos agentes permanecen localizados y producen lesiones en el sitio de entrada (papilomavirus y molusco contagioso); la mayor parte se propagan a otro sitio. La capa epidérmica está desprovista de vasos sanguíneos y fibras nerviosas, por tanto, los virus que infectan células epidérmicas tienden a permanecer localizados. Los virus que se introducen profundamente en la dermis tienen acceso a vasos sanguíneos, linfáticos, células dendríticas y macrófagos y, en general, se diseminan y causan infecciones sistémicas.

Muchas erupciones cutáneas generalizadas que acompañan a las infecciones virales se desarrollan debido a que los virus se diseminan a la piel por medio del torrente sanguíneo luego de replicarse en algún otro sitio. Estas infecciones se originan por otra ruta (p. ej., infecciones por virus del sarampión a través de la vía respiratoria), y la piel se infecta desde su base.

En las erupciones, las lesiones cutáneas se designan como macúlas, pápulas, vesículas o pústulas. Las macúlas, causadas por dilatación local de los vasos sanguíneos dérmicos, evolucionan hasta pápulas si hay edema e infiltración celular en el área. Cuando la epidermis se afecta aparecen vesículas que se convierten en pústulas si hay reacción inflamatoria que suministre leucocitos polimorfonucleares a la lesión. A continuación aparecen úlceras y costras. Cuando la afección de los vasos dérmicos es más grave se presentan erupciones hemorrágicas y petequias.

Con frecuencia las lesiones cutáneas no participan en la transmisión viral. No se desprenden virus infectantes de la erupción maculopapular del sarampión o de la erupción que acompaña a las infecciones por arbovirus. Por el contrario, las lesiones cutáneas son importantes en la diseminación de poxvirus y virus del herpes simple. Las partículas virales infectantes alcanzan títulos altos en el líquido vesicu-

lopuscular de estas erupciones, y tienen capacidad para iniciar infección por contacto directo en otros huéspedes. Sin embargo, incluso en estos casos se estima que los virus en las secreciones bucofaríngeas pueden ser más importantes para transmitir la enfermedad que las lesiones cutáneas.

Revisión de infecciones virales del sistema nervioso central

La invasión del sistema nervioso central por virus siempre es una afección grave. Los virus pueden tener acceso al cerebro por dos rutas: el torrente sanguíneo (diseminación hemática) y fibras nerviosas periféricas (diseminación neuronal). El acceso a través de la sangre puede acontecer por crecimiento a través del endotelio de vasos cerebrales finos, por transporte pasivo a través del endotelio vascular, por paso a través del plexo coroideo al líquido cefalorraquídeo, o por transporte dentro de monocitos, leucocitos o linfocitos infectados. Una vez rota la barrera hematoencefálica, puede haber propagación más amplia en cerebro y médula espinal. Parece existir una correlación entre el grado de viremia alcanzado por un virus neurotrópico hematógeno y su neuroinvasividad.

La otra vía al sistema nervioso central son los nervios periféricos. Un nervio sensorial o las terminaciones motoras pueden captar y transportar virus en los axones, a través de los espacios endoneurales o por infección de las células de Schwann. Los herpesvirus viajan por los axones para llegar a las neuronas del ganglio de la raíz dorsal.

Las rutas de diseminación no son mutuamente excluyentes y un virus puede utilizar más de una vía. Muchos virus, incluso herpes, toga, flavi, entero, rabdo, paramixovirus y bunyavirus pueden infectar el sistema nervioso central y causar meningitis, encefalitis o ambas. La encefalitis por el virus del herpes simple es la causa más común de encefalitis esporádica en humanos.

Las reacciones patológicas a infecciones virales citadas del sistema nervioso central incluyen necrosis, inflamación y fagocitosis por células gliales. En algunas otras infecciones del sistema nervioso central, como la rabia, no está clara la causa de los síntomas. La encefalitis posinfecciosa que aparece después de la infección por sarampión (casi 1 x 1 000 casos), y pocas veces después de infecciones por rubéola, se caracteriza por desmielinización sin degeneración neuronal y quizá sea una enfermedad autoinmunitaria.

Existen algunas enfermedades neurodegenerativas poco comunes denominadas infecciones por virus lentos, invariablemente mortales. Las características de éstas incluyen período de incubación prolongado (meses o años) seguido por el inicio de enfermedad clínica y deterioro progresivo, que provoca la muerte en semanas a meses; por lo general, sólo está infectado el sistema nervioso central. Algunas infecciones por virus lento, como la leucoencefalopatía multifocal progresiva (poliomavirus JC) y la panencefalitis esclerosante subaguda (virus del sarampión), son causadas por virus típicos. Por el contrario, las encefalopatías espongiiformes subagudas, cuyo ejemplo es el *scrapie*, se deben a agentes no convencionales. En estas infecciones tienen lugar cambios neuropatológicos característicos, pero no se producen respuestas inflamatoria o inmunitaria.

Revisión de infecciones virales congénitas

Unos pocos virus producen enfermedad en el feto humano. La mayor parte de las infecciones virales maternas no afectan al feto ni causan viremia. Sin embargo, si el virus atraviesa la placenta y produce infección *in utero*, puede causar daño grave al feto.

La producción de defectos congénitos se atribuye a tres principios: 1) capacidad del virus para infectar a una mujer embarazada y transmitirse al feto; 2) etapa de la gestación en la cual se presenta la infección, y 3) capacidad del virus para infectar de manera directa al feto o alterar el ambiente fetal indirectamente por infección de la madre (p. ej., fiebre). En la figura 30-6 se muestran las situaciones que pueden presentarse antes y después de la invasión viral del feto.

El virus de la rubéola y el citomegalovirus son los agentes primarios causantes de defectos congénitos en humanos (véanse capítulos 33 y 40). También pueden causar infección congénita el virus del herpes simple, de varicela zoster, de la hepatitis B, del sarampión, de la parotiditis, el VIH, los parvovirus y algunos enterovirus (cuadro 30-5).

Las infecciones *in utero* pueden producir muerte fetal, parto prematuro, retardo del crecimiento intrauterino o infección posnatal persistente. Pueden producir malformaciones del desarrollo que incluyen cardiopatía congénita, cataratas, sordera, microcefalia e hipoplasia de las extremidades. El tejido fetal es de proliferación rápida. La infección viral y la multiplicación de los virus pueden destruir las células o alterar las funciones celulares. Los virus líticos, como el del herpes simple, pueden provocar muerte fetal. Los virus menos citolíticos, como el de la rubéola, pueden disminuir la tasa de división celular. Si esto aconte-

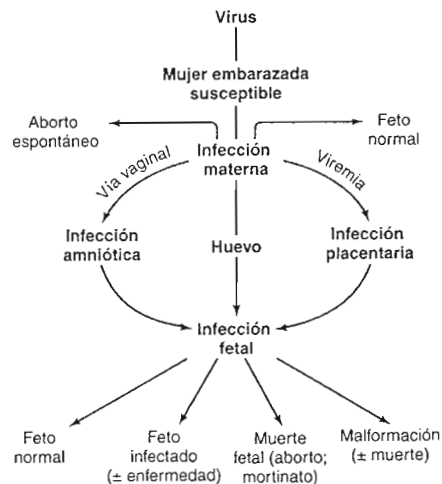


Figura 30-6. Infección viral del feto (según Catalano y Sever).

Cuadro 30-5. Adquisición de infecciones perinatales importantes de origen viral

Virus	Frecuencia del momento de la infección			Incidencia neonatal (x 1 000 nacidos vivos)
	Prenatal (in utero)	Natal (durante el parto)	Posnatal (después del parto)	
Rubéola	+	-	Poco común	0.1 a 0.7
Citomegalovirus	+	++	+	5 a 25
Herpes simple	+	++	+	0.03 a 0.5
Varicela zoster	+	Poco común	Poco común	Poco común
Hepatitis B	+	++	+	0 a 7
Enterovirus	+	++	+	No común
VIH	+	++	Poco común	Variable
Parvovirus B19	+	-	Poco común	Poco común

ce durante una fase crítica del desarrollo de un órgano, pueden producirse defectos estructurales y anomalías congénitas.

Muchos de estos virus pueden producir enfermedades graves en el recién nacido (cuadro 30-5). A veces estas infecciones se contraen de la madre durante el parto (natales) por secreciones genitales, heces o sangre contaminadas. Con menor frecuencia, la infección puede contraerse en las primeras semanas después del nacimiento (posnatal) y puede adquirirse de la madre, de los miembros de la familia, del personal del hospital o por transfusión sanguínea.

Efectos de la edad del huésped

La edad del huésped es un factor en la patogenia viral. Las enfermedades más graves con frecuencia se producen en animales recién nacidos. Además de la respuesta inmunitaria madura, parecen existir otros cambios vinculados con la edad en la susceptibilidad de ciertos tipos de células a la infección viral. Las infecciones virales pueden presentarse en todos los grupos de edad, pero pueden manifestar su mayor impacto en diferentes épocas de la vida; desde la rubéola (más grave durante la gestación) hasta la encefalitis de San Luis (más grave en el anciano).

PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE INFECCIONES VIRALES

Quimioterapia antiviral

A diferencia de los virus, las bacterias y los protozoarios no se apoyan en los mecanismos celulares del huésped para su replicación; por tanto, los procesos específicos de estos organismos proporcionan blancos inmediatos para el desarrollo de fármacos antibacterianos y antiprotozoarios. Los virus son parásitos intracelulares obligados, en consecuencia los antivirales deben inhibir selectivamente las funciones virales sin dañar al huésped, lo cual vuelve sumamente difícil el desarrollo de dichos fármacos. Otra limitación es que se presentan muchas rondas de duplicación de virus durante el periodo de incubación y el virus se ha difundido antes de que aparezcan los síntomas, de modo que un fármaco se vuelve relativamente ineficaz.

Los fármacos antivirales activos son necesarios contra virus para los cuales no se dispone de vacunas o éstas no son muy eficaces; esto último quizá se debe a la multiplicidad de serotipos (p. ej., rinovirus) o a cambios constantes del virus (p. ej., influenza, VIH). También se requieren antivirales para reducir la morbilidad y las pérdidas económicas causadas por infecciones virales, y para tratar el número creciente de pacientes inmunodeficientes en mayor riesgo de infección.

Mediante estudios de virología molecular se han identificado con éxito funciones específicas del virus, que pueden servir como blancos para la terapia antiviral. Las etapas más susceptibles en las infecciones virales incluyen adhesión del virus a la célula huésped; pérdida de la cubierta del genoma viral; síntesis del ácido nucleico viral; traducción de proteínas virales; y ensamblado y liberación de las partículas de la progenie del virus. En realidad, es muy difícil desarrollar antivirales capaces de distinguir entre los procesos replicativos del virus y los del huésped.

Sin embargo, en la última década se han desarrollado varios compuestos que son valiosos en el tratamiento de algunas enfermedades virales, en particular contra herpesvirus e infecciones por VIH (cuadro 30-6). Los ejemplos se resumen posteriormente. El mecanismo de acción de los antivirales es variable. Con frecuencia el fármaco debe activarse por enzimas en la célula antes que pueda actuar como inhibidor de la replicación viral; los fármacos más selectivos se activan por una enzima codificada por el virus dentro de la célula infectada.

Se requiere investigar más para aprender a reducir al mínimo el surgimiento de variedades de virus resistentes a fármacos y diseñar antivirales más específicos con base en las características moleculares de la estructura y de la replicación de los diferentes tipos de agentes.

A. Análogos de los nucleósidos

La mayor parte de los antivirales disponibles son análogos de los nucleósidos. Los antivirales inhiben la replicación del ácido nucleico inhibiendo las polimerasas para la replicación del ácido nucleico. Además, algunos análogos pueden incorporarse al ácido nucleico y bloquear aún más su síntesis o alterar su función.

Cuadro 30-6. Principales compuestos antivirales utilizados para el tratamiento de infecciones virales

Fármaco	Análogo nucleósido	Mecanismo de acción	Espectro viral ¹
Aciclovir	Sí	Inhibidor de polimerasa viral	Herpes simple, varicela zoster
Amantadina	No	Impide la pérdida de la cubierta viral	Influenza A
Cidofovir	No	Inhibidor de polimerasa viral	Citomegalovirus, herpes simple, poliovirus
Didanosina (ddI)	Sí	Inhibidor de transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2
Foscarnet	No	Inhibidor de polimerasa viral	Herpesvirus, VIH-1, VHB
Fuzeón	No	Inhibidor de fusión de VIH (bloquea la entrada viral)	VIH-1
Ganciclovir	Sí	Inhibidor de polimerasa viral	Citomegalovirus
Indinavir	No	Inhibidor de proteasa del VIH	VIH-1, VIH-2
Lamivudina (3TC)	Sí	Inhibidor de transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2, VHB
Nevirapina	No	Inhibidor de transcriptasa inversa	VIH-1
Ribavirina	Sí	Quizá impide el capping del mRNA viral	Virus sincitial respiratorio, influenza A y B, fiebre de Lassa, hepatitis C, otros
Ritonavir	No	Inhibidor de proteasa VIH	VIH-1, VIH-2
Saquinavir	No	Inhibidor de proteasa VIH	VIH-1, VIH-2
Stavudina (d4T)	Sí	Inhibidor de transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2
Trifluridina	Sí	Inhibidor de polimerasa viral	Herpes simple, citomegalovirus, vaccinia
Valaciclovir	Sí	Inhibidor de polimerasa viral	Herpesvirus
Vidarabina	Sí	Inhibidor de polimerasa viral	Herpesvirus, virus de la viruela bovina, VHB
Zalcitabina (ddC)	Sí	Inhibidor de transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2, VHB
Zidovudina (AZT)	Sí	Inhibidor de transcriptasa inversa	VIH-1, VIH-2, VHB

¹ VIH-1, VIH-2, virus de la inmunodeficiencia humana tipos 1 y 2; VHB, virus de la hepatitis B; HTLV-1, virus de la leucemia de célula T humana tipo 1.

Los análogos pueden inhibir enzimas celulares y también enzimas codificadas por el virus. Los más efectivos análogos son aquellos capaces de inhibir específicamente enzimas codificadas por el virus, con mínima inhibición de enzimas análogas de la célula huésped. Con el tiempo, generalmente se originan variedades del virus resistentes al fármaco, a veces con gran rapidez. Las combinaciones de antivirales puede retardar el surgimiento de variedades resistentes (p. ej., la terapéutica de "triple fármaco" empleada para tratar las infecciones por VIH).

Ejemplos de análogos de nucleósidos son el aciclovir (acicloguanosina), lamivudina (3TC), ribavirina, vidarabina (arabinósido de adenina) y zidovudina (azidotimidina; AZT).

B. Análogos de nucleótidos

Los análogos de nucleótidos difieren de los análogos de nucleósidos en que un grupo fosfato se encuentra fijado a ellos. Su capacidad para persistir en las células durante periodos prolongados incrementa su potencia. Un ejemplo es el cidofovir (HPMPC).

C. Inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa

La nevirapina fue el primer miembro de una clase de inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa. No requiere fosforilación para su actividad y no compete con los nucleósidos trifosfato. Actúa uniéndose directamente a la

transcriptasa inversa y rompiendo el sitio catalítico de la enzima. Las mutaciones resistentes emergen rápidamente.

D. Inhibidores de proteasa

Saquinavir es el primer inhibidor de proteasa aprobado para el tratamiento de la infección por VIH. Es un agente peptidomimético que se diseñó mediante modelos de computadora como una molécula que se acopla al sitio activo de la enzima proteasa del VIH. El saquinavir inhibe la proteasa viral necesaria en la última etapa del ciclo de replicación para escindir los precursores polipéptidos *gag* y *gag-pol* y formar el centro maduro del virión y activar la transcriptasa inversa, que se utilizará en el siguiente ciclo de infección. La inhibición de la proteasa produce partículas virales no infectantes. Otros inhibidores de proteasa son indinavir y ritonavir.

E. Inhibidor de fusión

El fuzeón es un péptido grande que bloquea el paso de fusión del virus y la membrana celular requerido en la entrada de VIH-1 a las células.

F. Otros tipos de antivirales

Algunos tipos de compuestos muestran cierta actividad antiviral en determinadas condiciones.

1. **Amantadina y rimantadina:** estas aminas sintéticas inhiben específicamente al virus de la influenza A, al

impedir la etapa de pérdida de la cubierta viral. Deben administrarse profilácticamente para tener un efecto protector significativo.

2. **Foscarnet® (ácido fosfonotórmico, PFA):** es un análogo orgánico del pirofosfato inorgánico. El foscarnet® inhibe de manera selectiva la DNA polimerasa y la transcriptasa inversa virales en el sitio de unión con el pirofosfato.
3. **Metisazona:** la metisazona tiene interés histórico como inhibidor de poxvirus. Este fue el primer agente antiviral descrito y que contribuyó a la campaña de erradicación de la viruela. Bloquea una etapa tardía de la replicación viral y como resultado se producen partículas virales inmaduras no infectantes.

Interferones

Los interferones (IFN) son proteínas codificadas del huésped que son miembros de la gran familia de citocinas y que inhiben la duplicación viral. Se producen de forma rápida (en horas) en respuesta a infección viral u otros inductores y son uno de los primeros que actúan en el cuerpo en la defensa contra una infección viral. El interferón fue la primera citocina identificada. Los interferones modulan las inmunidades humoral y celular, y muestran extensa actividad reguladora del crecimiento celular, pero el foco estará en sus efectos antivirales.

A. Propiedades de los interferones

Existen múltiples especies de interferones que caen en tres grupos generales designados IFN α , IFN β e IFN γ (cuadro 30-7). La familia del IFN α es amplia, codificada por al menos 20 genes del genoma humano; un solo gen codifica las familias IFN β e IFN γ . Los multigenes de las tres familias han sufrido divergencias, de modo que en la actualidad

las secuencias codificantes no están íntimamente relacionadas.

Los diferentes interferones son de tamaño similar, pero las tres clases son antigénicamente distintas. El IFN α y el IFN β resisten un pH bajo. El IFN β y el IFN γ son glucosilados, pero no requieren azúcares para su actividad biológica; así, los interferones clonados producidos en bacterias son biológicamente activos.

B. Síntesis de los interferones

Todas las especies de vertebrados producen interferones. Las células normales, en general, no sintetizan interferón en tanto no sean inducidas para hacerlo. La infección por virus constituye una fuerte agresión que produce tal inducción: los virus de RNA son inductores más fuertes de interferón en comparación con los virus de DNA. Los interferones también pueden inducirse por el RNA de doble cadena, por endotoxina bacteriana y por algunas moléculas pequeñas, como tilorona. La mayor parte de los virus no inducen la producción de IFN γ , pero la estimulación mitógena sí la induce.

Diferentes clases de interferón se producen en diferentes tipos de células. El IFN α y el IFN β se sintetizan en muchos tipos de células, pero el IFN γ se produce principalmente en los linfocitos, en especial las células T y NK.

C. Actividad antiviral y otros efectos biológicos

Los interferones se identificaron primero por su capacidad para interferir con la infección viral en células cultivadas. Los interferones son detectables muy pronto después de la infección viral en animales íntegros y la producción de virus disminuye casi enseguida (figura 30-7). No aparecen anticuerpos en la sangre del animal sino hasta varios días después que la producción viral declina. Esta interrelación temporal sugiere que el interferón desempeña una función pri-

Cuadro 30-7. Propiedades de los interferones humanos

Propiedad	Tipo		
	α	β	γ
Nomenclatura actual	IFN α	IFN β	IFN γ
Designación anterior	Leucocitos	Fibroblasto	Interferón inmune
Número de genes codificantes por familia	≥ 20	1	1
Fuente celular principal	Leucocitos	Fibroblastos	Linfocitos
Agente inductor	Virus; RNA ds	Virus; RNA ds	Mitógenos
Estabilidad a pH 2.0	Estable	Estable	Lábil
Glucosilado	No	Sí	Sí
Intrones en los genes	No	No	Sí
Homología con el IFN α	80 a 95%	30%	< 10%
Localización de los genes en el cromosoma	9	9	12
Tamaño de la proteína secretada (número de aminoácidos)	165	166	143
Ubicación cromosómica de los genes del receptor de IFN	21	21	6

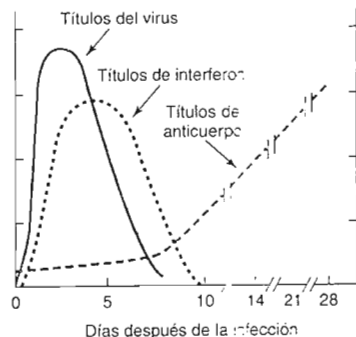


Figura 30-7. Ilustración de la cinética del interferón y síntesis de anticuerpos después de la infección viral respiratoria. Las relaciones temporales hacen pensar que los interferones están involucrados en el sistema de defensa inicial del huésped contra infecciones virales.

maria en la defensa del huésped contra las infecciones virales. La observación de que las personas agammaglobulinémicas generalmente se recuperan de infecciones virales primarias casi tan bien como las personas sanas también apoya esta conclusión.

El interferón no protege a la célula infectada por el virus que lo produce, y el interferón en sí no es el agente antiviral. Además, el interferón se mueve a otras células donde induce un estado antiviral al impulsar la síntesis de otras proteínas que en realidad inhiben la duplicación viral. Las moléculas de interferón se unen a receptores específicos de la superficie celular en células blanco. IFN α e IFN β tienen el mismo receptor, en tanto que IFN γ reconoce un receptor distinto. La unión del receptor dispara la fosforilación de tirosina y la activación de factores de transcripción (proteínas STAT) en el citoplasma, que luego experimentan translocación en el núcleo y median la transcripción de genes inducibles por interferón (lo que tiene lugar en minutos después del enlace con interferón). Esto da como resultado la síntesis de varias enzimas que se cree son útiles en el desarrollo del estado antiviral. Al parecer están involucradas varias vías, entre otras, las siguientes: 1) una cinasa proteínica dependiente de dsRNA, PKR, que fosforila e inactiva al factor de iniciación celular eIF-2 y, por tanto, evita la formación del complejo de iniciación necesario para la síntesis de proteína viral; 2) una sintetasa de oligonucleótido, 2-5A sintetasa, que activa una endonucleasa celular, RNasa L, que a su vez degrada a rRNA; 3) una fosfodiesterasa, que inhibe la elongación de la cadena peptídica, y 4) sintetasa de óxido nítrico, que IFN γ induce en los macrófagos. Sin embargo, estas explicaciones no revelan por qué el estado antiviral actúa de forma selectiva contra los mRNA virales y no contra los mRNA celulares. El interferón también puede inhibir otros pasos en la duplicación viral.

Los interferones casi siempre son específicos de especies huésped en cuanto a función, pero no son específicos para un virus determinado. Se puede inhibir la duplicación de una amplia variedad de virus de DNA y RNA. Cuando

se agrega el interferón a las células antes de la infección, hay una marcada inhibición de la duplicación viral, pero función celular casi normal. Los interferones son muy potentes, así que para la función se requieren cantidades muy pequeñas. Se ha estimado que para inducir el estado antiviral son suficientes menos de 50 moléculas de interferón por célula.

D. Mecanismos del virus para contrarrestar el interferón

Los virus poseen diferentes mecanismos para bloquear la actividad inhibidora de los interferones sobre su replicación, procesos necesarios para remontar esta línea de defensa del huésped. Proteínas virales específicas pueden impedir la activación de la proteína cinasa clave, PKR (adenovirus, herpesvirus); activar un inhibidor celular de la PKR (influenza, poliovirus); bloquear la señal de transducción inducida por el interferón (adenovirus, virus de Epstein-Barr, virus de la hepatitis B); o neutralizar el IFN y al actuar como receptor soluble del interferón (mixoma virus).

E. Estudios clínicos

Originalmente, la expectativa fue que los interferones podrían ser la respuesta a la prevención de muchas enfermedades virales, como infecciones respiratorias en las cuales participan varios virus diferentes. Sin embargo, su uso resulta ser no práctico porque, para que sean efectivos, se deben suministrar dosis altas antes de la exposición al virus o al inicio de la infección antes de la aparición de signos clínicos de enfermedad. El IFN α recombinante es eficaz para controlar la infección hepática por el virus de la hepatitis B y C (véase capítulo 35), aunque después de interrumpir el tratamiento es común la recaída. El interferón de uso tópico ocular puede suprimir la queratitis herpética y acelerar la cicatrización.

Están aprobadas varias preparaciones de interferón para uso clínico. Los interferones causan muchos efectos secundarios, sobre todo sistémicos y hematológicos.

Vacunas virales

El propósito de las vacunas virales es utilizar la respuesta inmunitaria del huésped para evitar una enfermedad viral. Varias vacunas han demostrado notable eficacia para reducir la incidencia anual de enfermedades virales (figura 30-8). La vacunación es el método más adecuado, en relación costo-eficacia, para prevenir infecciones virales graves.

A. Principios generales

La inmunidad a la infección viral se basa en el desarrollo de una respuesta inmunitaria a los antígenos específicos localizados en las superficies de las partículas virales o de las células infectadas por virus. Para los virus cubiertos, los antígenos importantes son las glucoproteínas de la superficie. Aunque los animales infectados pueden desarrollar anticuerpos contra las proteínas centrales del virión, o contra las proteínas no estructurales implicadas en la replicación del virus, se estima que esta respuesta inmunitaria desempeña una función escasa o nula en el desarrollo de la resistencia a la infección.

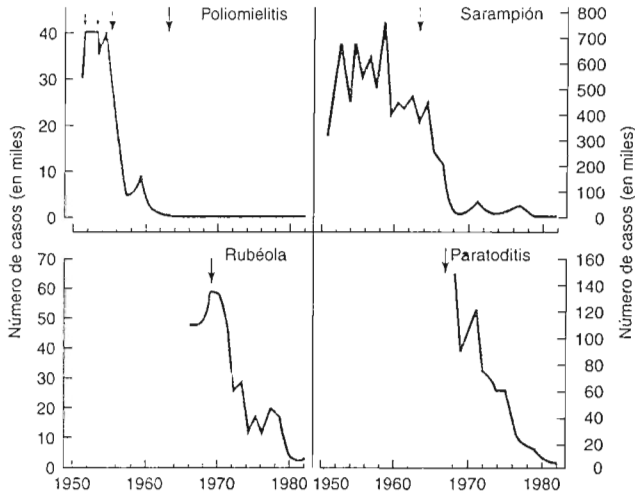


Figura 30-8. Incidencia anual de varias enfermedades virales en EUA. Fecha de introducción de la vacuna indicada por flecha (datos compilados por los Centers for Disease Control and Prevention).

Se dispone de vacunas para la prevención de varias enfermedades humanas significativas. Las vacunas disponibles en la actualidad (cuadro 30-8) están descritas en detalle en los capítulos donde se estudian familias específicas de virus y las enfermedades que causan.

La patogenia de una infección viral particular influye en los objetivos de la inmunoprophilaxis. La inmunidad de mucosas (IgA local) es importante en la resistencia a la infección por virus que se replican exclusivamente en las mucosas (rinovirus, virus de la influenza, rotavirus). Los anticuerpos séricos controlan a los virus que se propagan a través de la sangre de manera virémica (polio, hepatitis, sarampión). La inmunidad mediada por células también participa en la protección contra infecciones sistémicas (sarampión, herpes).

Ciertas características de un virus o de una enfermedad viral pueden complicar la elaboración de una vacuna eficaz. La existencia de muchos serotipos (como sucede con el rinovirus) o de varios reservorios animales (como con el virus de la influenza) hace difícil producir la vacuna. Otros obstáculos incluyen la integración del DNA viral en el DNA cromosómico del huésped (retrovirus) y la infección de las células del sistema inmunitario del huésped (virus de la inmunodeficiencia humana).

B. Vacunas de virus muertos

Las vacunas inactivadas (virus muertos) se elaboran purificando las preparaciones virales hasta un cierto grado e inactivando la infectividad del virus de una manera que se produzca daño mínimo a las proteínas estructurales virales; con frecuencia se emplea el tratamiento con formalina en baja concentración (cuadro 30-9). Para algunas enferme-

dades, las vacunas de virus muertos son las únicas disponibles en la actualidad.

Las vacunas de virus muertos preparadas a partir del virión completo generalmente estimulan el desarrollo de anticuerpos circulantes contra las proteínas de la cubierta del virus y confieren cierto grado de resistencia.

Las ventajas de las vacunas inactivadas son que no hay reversión de la virulencia por el virus de la vacuna y que las vacunas se pueden elaborar aun sin disponer de un virus atenuado aceptable.

Las siguientes desventajas se aplican a las vacunas de virus muerto:

- 1) Se requiere cuidado extremo en la fabricación para verificar que no hay residuos de virus vivo virulento en la vacuna.
- 2) Con frecuencia, la inmunidad conferida es breve y se deben administrar dosis de refuerzo, lo que no sólo implica problemas logísticos para localizar varias veces a la persona que requiere la inmunización, sino también causa preocupación acerca de los posibles efectos (reacciones de hipersensibilidad) por la administración repetida de proteínas extrañas.
- 3) La administración parenteral de vacunas con virus muertos, incluso cuando éstos estimulan anticuerpos circulantes (IgM, IgG) a valores satisfactorios, en ocasiones confiere protección limitada debido a que no se induce resistencia local de manera adecuada (IgA) en el sitio primario de multiplicación o puerta natural de entrada de una infección por el virus nativo, por ejemplo, nasofaringe para virus respiratorios, vías digestivas para poliovirus (véanse figura 30-9 y capítulos 36 y 39).

Cuadro 30-8. Vacunas de virus aprobadas en EUA (2003)

Uso	Vacuna	Tipo	Sustrato celular
Común	Hepatitis A	Muerto	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5)
	Hepatitis B	Subunidad (HBsAg)	Levadura (DNA recombinante)
	Influenza A y B	Muerto	Huevos de pollo en embrión
	Sarampión	Vivo	Fibroblastos de embrión de pollo
	Paperas	Vivo	Huevos de pollo en embrión y fibroblastos de embrión de pollo
	Poliovirus (IPV)	Muerto	Células de riñón de mono (Vero)
	Poliovirus (OPV)	Vivo	Células de riñón de mono
	Rabia	Muerto	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5) o células diploides de pulmón fetal de macaco o fibroblastos de pollo
	Rubéola	Vivo	Fibroblastos diploides humanos (WI38)
	Varicela zoster	Vivo	Fibroblastos diploides humanos (MRC-5)
Situaciones especiales	Adenovirus ¹	Vivo	Fibroblastos diploides humanos (WI-38)
	Encefalitis japonesa ²	Muerto	Cerebro de ratón
	Viruela	Vivo	Línea de becerro
	Fiebre amarilla ²	Vivo	Huevos de pollo en embrión

¹ Utilizada en el ejército de EUA, ya no está disponible.² Utilizada al viajar en áreas endémicas.

Nota: una vacuna de rotavirus vivo se obtuvo del mercado en 1999 como resultado de una relación con intususcepción de infantes.

- 4) La respuesta mediada por células a vacunas inactivadas generalmente es deficiente.
- 5) Algunas vacunas con virus muertos inducen hipersensibilidad a la infección subsecuente, quizá debido a una respuesta inmunitaria desequilibrada a los antígenos de la superficie viral que no imita la infección con el virus natural.

C. Vacunas con virus vivo atenuado

Las vacunas con virus vivo utilizan virus mutantes que se superponen antigénicamente con el virus de tipo nativo, pero que están restringidos en algún paso de la patogenia de la enfermedad (cuadro 30-9).

Se desconoce la base genética para la atenuación de la mayoría de las vacunas virales, ya que se seleccionaron de manera empírica mediante pasajes en serie en animales o cultivos de células (por lo común de una especie diferente del huésped natural).

Las vacunas con virus vivo atenuado tienen la ventaja de actuar de una manera similar a la infección natural respecto de su efecto sobre la inmunidad. Los virus se multiplican en el huésped y tienden a estimular la producción persistente de anticuerpos para inducir una respuesta satisfactoria mediada por células, así como la producción de anticuerpos y resistencia en la puerta de entrada (figura 30-9).

Cuadro 30-9. Comparación de características de vacunas virus muertos y vivos

Características	Virus muertos	Virus vivos
Duración de la inmunidad	Más corta	Más larga
Efectividad de la protección (imita mejor la infección natural)	Menor	Mayor
Inmunoglobulinas producidas	IgG	IgA e IgG
Inmunidad de las mucosas producida	Mala	Sí
Inmunidad mediada por células producida	Mala	Sí
Reversión a virulencia	No	Posible
Excreción de virus de vacuna y transmisión a contactos no inmunes	No	Posible
Interferencia por otros virus en el huésped	No	Posible
Estabilidad a temperatura ambiente	Alta	Baja

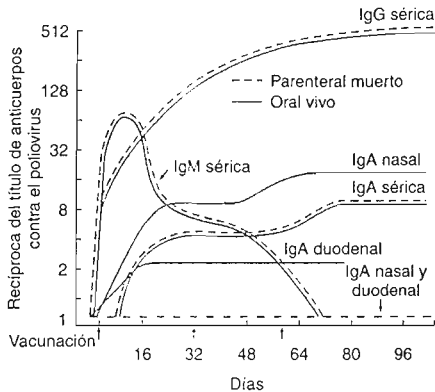


Figura 30-9. Respuestas sérica y secretoria de anticuerpo a la poliovacuna de virus vivos atenuados administrada por vía oral y a la inoculación intramuscular de poliovacuna con virus muerto. (Reproducido con autorización de Ogra PL *et al.*: *Rev Infect Dis* 1980;2:352.)

Las desventajas de la vacuna con virus vivo atenuado incluyen las siguientes:

- 1) Riesgo de reversión a una mayor virulencia durante la multiplicación dentro del vacunado. Aunque no se ha demostrado que la reversión sea un problema en la práctica, la posibilidad existe.
- 2) Agentes extraños no identificados que infectan de manera latente el sustrato de cultivo (huevos, cultivos celulares primarios) pueden penetrar a la reserva de la vacuna. Los virus encontrados en las vacunas incluyen virus de la leucosis aviar, poliomavirus SV40 simiano y citomegalovirus simiano. El problema de los contaminantes extraños se puede superar a través del uso de células normales propagadas en serie en el cultivo (p. ej., líneas de células diploides humanas) como sustrato para cultivar el virus para la vacuna.
- 3) El almacenamiento y la limitada vida de anaquel de las vacunas atenuadas representan un problema, pero en algunos casos éste se puede superar con el empleo de estabilizadores virales (p. ej., $MgCl_2$ para la vacuna de la polio).
- 4) La interferencia con una coinfección natural concurrente por un virus de tipo nativo, que puede inhibir la replicación del virus de la vacuna y disminuir su eficacia. Esto se ha observado con cepas vacuinales de poliovirus que pueden ser inhibidas por infecciones concurrentes de varios enterovirus.

D. Uso apropiado de las vacunas actuales

Debe recalcar un hecho: una vacuna eficaz no protege contra la enfermedad si no se administra en la dosis apropiada a las personas susceptibles. El fracaso para suministrar a todos los sectores de la población ciclos completos de inmunización se refleja en que todavía se presentan casos

de sarampión en personas no vacunadas. En EUA, los niños en edad preescolar de regiones pobres son el grupo vacunado de manera menos adecuada.

Ciertas vacunas virales se recomiendan para emplearse en el público en general. Otras sólo se aconsejan en personas en riesgo especial debido a su ocupación, viajes o estilo de vida.

Existe la posibilidad teórica de que la respuesta de anticuerpos pueda disminuir o que se presente interferencia cuando se aplican dos o más vacunas de virus vivos al mismo tiempo. Sin embargo, en la práctica, la administración simultánea de vacunas con virus vivo puede ser segura y eficaz. Es eficaz la vacuna trivalente oral de virus vivos contra polio, o una vacuna combinada de virus vivos de sarampión, parotiditis y rubéola. La respuesta de anticuerpos a cada componente de estas vacunas combinadas es comparable a la respuesta de anticuerpos para la vacuna individual administrada por separado.

E. Prospectos futuros

La biología molecular y las tecnologías modernas ya se combinan para hacer posibles nuevos abordajes hacia el desarrollo de una vacuna efectiva. Muchos de estos enfoques impiden la inclusión del ácido nucleico viral en el producto final, mejorando así la seguridad de la vacuna. Ejemplos de lo que está en curso en esta área se puede listar como sigue. Aún falta determinar el éxito final de estos nuevos métodos.

1. Uso de técnicas de DNA recombinante para insertar el gen que codifica la proteína de interés en el genoma de un virus antivirulento que se puede administrar como la vacuna (como virus de vacuna).
2. Incluir en la vacuna sólo los componentes subvirales necesarios para estimular el anticuerpo protector, y de este modo reducir la incidencia de reacciones adversas para la vacuna.
3. Uso de proteínas purificadas por medio de genes clonados (una vacuna de virus de hepatitis B recombinante contiene proteínas virales sintetizadas en células de levadura).
4. Uso de péptidos sintéticos que corresponden a determinantes antigénicos en una proteína viral, y evitar así cualquier posibilidad de reversión a virulencia, puesto que no estaría presente ningún ácido nucleico viral, aunque la respuesta inmune que inducen los péptidos sintéticos es mucho más débil que la inducida por proteínas intactas.
5. Desarrollo de vacunas comestibles, de modo que las plantas transgénicas que sintetizan antígenos de virus patógenos pudieran proveer nuevas formas económicas de entregar las vacunas.
6. Uso de vacunas de DNA puro —potencialmente simples, baratas y seguras— en las que plásmidos recombinantes que lleven el gen para la proteína de interés se inyecten en los huéspedes y el DNA produzca la proteína inmunizante.
7. Administración local de la vacuna para estimular el anticuerpo en el portal de entrada (como las vacunas en aerosol para virus de enfermedades respiratorias).

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Los interferones son una parte importante de las defensas del huésped contra infecciones virales. ¿Cuál es el principal modo de acción del interferón?
 - Está presente en el suero de individuos saludables, así que provee una función de vigilancia viral
 - Cubre las partículas virales y bloquea su adhesión a las células
 - Induce la síntesis de una o más proteínas celulares que inhiben la traducción o transcripción.
 - Protege de muerte celular a la célula infectada por el virus que lo produjo
- Una niña de nueve meses de edad es llevada a la sala de urgencias debido a fiebre persistente y tos. Se escuchan estertores en su tórax izquierdo en el examen físico. En la radiografía de tórax se conserva un infiltrado en su pulmón izquierdo. Se diagnostica neumonía. ¿Cuál de los siguientes virus es la causa más probable?
 - Rotavirus
 - Rinovirus
 - Adenovirus
 - Virus sincitial respiratorio
 - Virus Coxsackie
- ¿Cuál de los siguientes es un principio fundamental de causa de infección viral?
 - Un tipo de virus induce un solo síndrome de enfermedad
 - Muchas infecciones virales son subclínicas y no producen enfermedad clínica
 - El tipo de enfermedad producida por un virus se puede predecir por la morfología de ese virus
 - Un síndrome de enfermedad particular tiene una sola causa viral
- La piel es una barrera impenetrable para la entrada de virus, pero pocos virus pueden traspasar esta barrera e iniciar una infección del huésped. ¿Cuál de los siguientes es un ejemplo de un virus que entra por rozaduras de la piel?
 - Adenovirus
 - Rotavirus
 - Rinovirus
 - Papilomavirus
 - Virus de influenza
- Un varón de 40 años de edad tiene VIH/SIDA que se caracteriza por un recuento bajo de CD4 y una alta carga viral. Se iniciará la terapia antirretroviral muy activa. Uno de los fármacos en consideración es un nucleósido análogo que inhibe la transcriptasa inversa viral y es activo contra VIH y VHB. El fármaco es:
 - Aciclovir
 - Amantadina
 - Ribavirina
 - Saquinavir
 - Lamivudina
 - Fuzeon
- En relación con el paciente de la pregunta 5, un agente peptidomimético que bloquea la separación mediada por virus de los precursores de proteína estructural viral se elige como segundo fármaco. Ese fármaco es:
 - Aciclovir
 - Amantadina
 - Ribavirina
 - Saquinavir
 - Lamivudina
 - Fuzeon
- Una mujer de 63 años es hospitalizada para tratamiento de leucemia. Un día después de la admisión la paciente presenta escalofríos, fiebre, tos, cefalea y mialgia. La paciente refiere que su esposo tuvo una enfermedad similar días antes. Hay una preocupación importante acerca de un brote de virus respiratorio en el personal de la sala de quimioterapia y en los pacientes de esa sala. Para el tratamiento del personal y los pacientes se elige una amina sintética que inhibe al virus de influenza A al bloquear la parte viral no cubierta. Ese fármaco es:
 - Aciclovir
 - Amantadina
 - Ribavirina
 - Saquinavir
 - Lamivudina
 - Fuzeon
- ¿Cuál de las siguientes declaraciones describe una ventaja de las vacunas de virus muertos sobre las vacunas de virus vivos atenuados?
 - Las vacunas de virus muertos inducen una variedad más amplia de respuestas inmunes que las vacunas de virus vivos atenuados
 - Las vacunas de virus muertos imitan mejor a las infecciones naturales que las vacunas de virus vivos atenuados
 - Las vacunas de virus muertos no poseen el riesgo de que el virus de la vacuna se pudiera transmitir a contactos susceptibles
 - Las vacunas de virus muertos son eficaces contra infecciones respiratorias por virus porque inducen buena inmunidad de las mucosas
- ¿Qué tipo de vacuna de hepatitis B se utiliza en la actualidad en EUA?
 - Vacuna peptídica sintética
 - Vacuna de virus muerto
 - Vacuna de virus vivo atenuado
 - Vacuna de subunidad producida por medio de DNA recombinante
- ¿Cuál de las siguientes expresiones describe con precisión a los anticuerpos de neutralización viral?
 - Se dirigen contra determinantes de proteína viral en el exterior de la partícula de virus
 - Aparecen en el huésped más pronto después de la infección viral que el interferón
 - Son inducidos por virus que causan la enfermedad
 - Sólo son inducidos por virus causantes de enfermedad
 - Son de poca importancia para la inmunidad en relación con la infección viral

Respuestas: 1 = C; 2 = D; 3 = B; 4 = D; 5 = E; 6 = D; 7 = B; 8 = C; 9 = D; 10 = A

REFERENCIAS

Ada G: Vaccines and vaccination. *N Engl J Med* 2001;345:1042.

Alcami A, Koszinowski UH: Viral mechanisms of immune evasion. *Trends Microbiol* 2000;8:410.

- Biron CA, Sen GC: Interferons and other cytokines. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Combination vaccines for childhood immunization: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), the American Academy of Pediatrics (AAP), and the American Academy of Family Physicians (AAFP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1999;48(RR-5):1.
- Hawley RJ, Eitzen EM Jr: Biological weapons—a primer for microbiologists. *Annu Rev Microbiol* 2001;55:235.
- Immunization of health-care workers: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and the Hospital Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997;46(RR-18):1.
- Preventing emerging infectious diseases: a strategy for the 21st century. Overview of the update CDC plan. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1998;47(RR-15):1.
- Tyler KL, Nathanson N: Pathogenesis of viral infections. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Parvovirus

Los parvovirus son los virus animales de DNA más sencillos. Debido a la pequeña capacidad codificadora de su genoma, la replicación del virus depende de funciones proporcionadas por las células huésped en replicación o por virus auxiliares de alguna infección concurrente. El único parvovirus patógeno para el humano que se conoce, B19, presenta tropismo para células eritroides progenitoras. Éste es la causa del eritema infeccioso ("quinta enfermedad"), un exantema común de la infancia; de síndrome poliartrogia-artritis en adultos normales; de crisis aplásicas en pacientes con trastornos hemolíticos; de anemia crónica en individuos inmunocomprometidos; y de muerte fetal.

PROPIEDADES DE LOS PARVOVIRUS

En el cuadro 31-1 se presentan las propiedades importantes de los parvovirus. Es sobresaliente el hecho de que los parvovirus son microorganismos imperfectos y dependientes, y al mismo tiempo tienen la capacidad para replicarse de manera autónoma.

Estructura y composición

Las partículas icosaédricas, sin envoltura, son de 18 a 26 nm de diámetro (figura 31-1). Las partículas tienen un peso molecular de 5.5 a 6.2×10^6 , densidad de flotación pesada de 1.39 a 1.42 g/cm³, y un $S_{20,w}$ de 110 a 122 . Los viriones son muy resistentes a la inactivación. Son estables en un pH de 3 a 9 y soportan temperaturas hasta de 56°C durante 60 min, pero se les puede inactivar con formalina. β prolactona y agentes oxidantes.

Los viriones contienen 2 o 3 proteínas de cubierta codificadas por una secuencia de DNA sobrepuesta en un marco de lectura. La principal proteína de la cápside (la VP2) representa cerca de 90% de la proteína del virión. El genoma es de cadena sencilla de DNA lineal de casi 5 kb. Un virus autónomo, el B19, contiene $5\,596$ nucleótidos, mientras un parvovirus defectuoso, el AAV-2, contiene $4\,680$ bases. El parvovirus autónomo generalmente sólo contiene en su cápside cadenas de DNA complementarias del mRNA viral; los virus defectuosos tienden a encerrar en la cápside cadenas de DNA de ambas polaridades con igual frecuencia en viriones separados.

Clasificación

Existen dos subfamilias de *Parvoviridae*: *Parvovirinae*, que infecta vertebrados, y *Densovirinae*, que infecta insectos. La primera comprende tres géneros. Los miembros de los géneros *Parvovirus* y *Erythrovirus* pueden replicarse de manera autónoma en células que se dividen con rapidez. El virus de la panleucopenia felina y el parvovirus canino causan enfermedades veterinarias graves, y se clasifican como miembros del género *Parvovirus* en razón de que se aíslan de muchos otros animales. El parvovirus humano B19 es el único miembro del género *Erythrovirus*. El género *Dependovirus* contiene miembros defectuosos que dependen de un virus auxiliar (un adenovirus o un herpesvirus) para su replicación. Los "virus humanos adenoasociados" no se han relacionado con ninguna enfermedad.

Replicación de parvovirus

El ciclo de replicación del parvovirus humano B19 se resume en la figura 31-2. El virus es muy trófico para las células eritroides humanas. El receptor celular para B19 es el antígeno P del grupo sanguíneo (globósido). El antígeno P se expresa sobre eritrocitos maduros, precursores eritroi-

Cuadro 31-1. Propiedades importantes de los parvovirus

Virión: Icosaédrico, 18 a 26 nm de diámetro, 32 capsómeros
Composición: DNA (20%), proteína (80%)
Genoma: DNA de cadena sencilla lineal, 5 kb, PM 1.5 a 2.0 millones
Proteínas: Una principal y una menor
Envoltura: Ninguna.
Replicación: En el núcleo, depende de las funciones de las células huésped en división.
Características notables:
Virus muy sencillo
El patógeno de humanos, B19, presenta tropismo para eritrocitos progenitores
Un género es defectuoso en su replicación y requiere un virus auxiliar

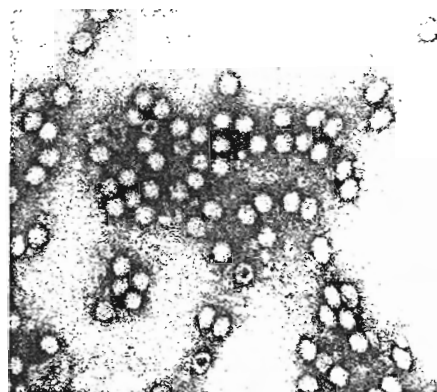


Figura 31-1. Microfotografía electrónica de las partículas del parvovirus. (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

des, megacariocitos, células endoteliales, placenta, e hígado y corazón fetales, lo que ayuda a explicar el estrecho tropismo del tejido del virus B19.

Los parvovirus son muy dependientes de las funciones de la célula para su replicación. La replicación del DNA viral tiene lugar en el núcleo. Para la célula huésped es necesario entrar a la fase S, pero el parvovirus no tiene la capacidad de inducir las células en reposo para iniciar la síntesis del DNA. Participan una o más DNA polimerasas

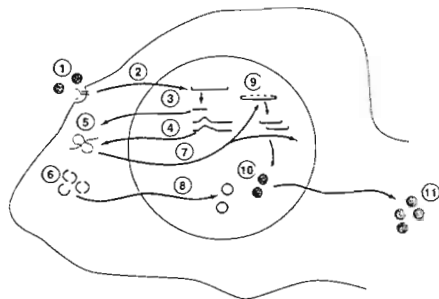


Figura 31-2. Ciclo biológico del parvovirus B19. 1) Unión al antígeno P del eritrocito y penetración; 2) translocación del DNA viral al núcleo; 3) transcripción del RNA no estructural y 4) RNA de las proteínas tardías de la cápside, seguido por 5) traducción de la proteína. No separables en el tiempo, 6) autoensamblado de la cápside, 7) acción de la proteína no estructural sobre el DNA viral, 8) translocación de la cápside al núcleo, 9) replicación del DNA, 10) introducción del DNA en cápsidas intactas, y 11) liberación del virus y lisis celular. (Reproducido con autorización de Young NS: Parvoviruses. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. (editors). Lippincott-Raven, 1996.)

celulares; las secuencias terminales sobre el DNA lineal del parvovirus se emplean como cebadores para comenzar la síntesis del DNA. Hay dos proteínas de la cápside. La proteína no estructural es necesaria para la replicación del virus y quizá es relevante en la patogénesis de algunas enfermedades relacionadas con el parvovirus B19, donde participaría modulando los genes de las células huésped. La replicación viral conduce a muerte celular.

INFECCIONES POR PARVOVIRUS EN HUMANOS

Patogenia y patología

En la figura 31-3 se ilustra un curso ordinario de infección por parvovirus humano B19 en adultos. Se supone que B19 es el agente causal de varias enfermedades (cuadro 31-2). Las células inmaduras de línea eritroide son blanco del parvovirus humano B19. Por tanto, se asume que la médula ósea del adulto y el hígado fetal son los principales sitios de replicación del virus en los pacientes. La replicación viral interrumpe la producción de eritrocitos y causa muerte celular. En pacientes inmunodeficientes hay infección persistente por el B19, la cual provoca anemia crónica. En los casos de muerte fetal, las infecciones crónicas pueden producir anemia grave en el feto.

Debido a que los parvovirus no defectuosos requieren dividir las células huésped con el fin de duplicarse, las enfermedades conocidas por parvovirus reflejan la especificidad del blanco (figura 31-4).

Los anticuerpos IgM e IgG específicos del virus se forman después de infecciones por B19. Las infecciones persistentes por parvovirus se presentan en pacientes con deficiencias inmunes que no producen anticuerpos que neutralizan a los virus. El exantema relacionado con eritema infeccioso es mediado, al menos en parte, por el complejo inmune.

Se puede encontrar B19 en la sangre y en las secreciones respiratorias del paciente infectado. La transmisión presuntamente tiene lugar por la vía respiratoria. No hay evidencia de excreción del virus en las heces o la orina. El virus se puede transmitir por vía parenteral mediante transfusión sanguínea, o por productos sanguíneos infectados, y

Cuadro 31-2. Enfermedades humanas relacionadas con el parvovirus B19¹

Síndrome	Huésped o condición	Características clínicas
Quinta enfermedad	Niños Adultos	Exantema cutáneo Artralgia-artritis
Crisis aplásicas transitorias	Hemólisis subyacente	Anemia aguda grave
Aplasia pura de eritrocitos	Inmunodeficiencias	Anemia crónica
Hidropesía fetal	Feto	Anemia mortal

¹ Modificado de Young NS: Parvoviruses. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. (editors). Lippincott-Raven, 1996.

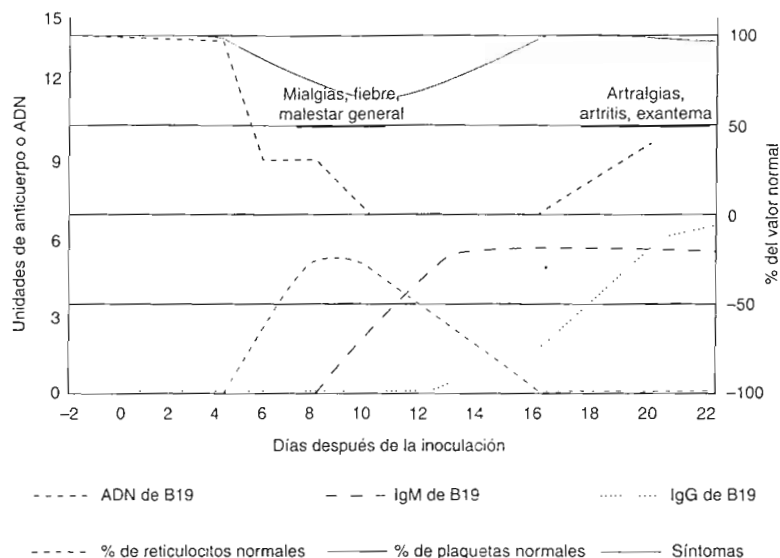


Figura 31-3. Hallazgos clínicos y de laboratorio durante el curso de la infección por parvovirus humano B19 en voluntarios adultos. La primera fase de la enfermedad con síntomas parecidos al resfriado coincide con viremia (días 6 a 12); la segunda fase de la enfermedad con exantema aparece por el día 18. (Reproducida con autorización de Anderson LJ: Human parvovirus B19. En: *Clinical Virology*, 2nd ed. Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG [editors]. ASM Press, 2002; datos tomados de Anderson MJ y *et al.*: Experimental parvoviral infection in humans. *J Infect Dis* 1985;152:257.)

verticalmente de la madre al feto. Debido a que B19 es resistente a los tratamientos que inactivan virus con envoltura, es probable que se encuentre presente en algunos concentrados de factores de la coagulación en bancos de sangre.

Varios parvovirus patógenos de animales se duplican en las células mucosas intestinales y causan enteritis.

Datos clínicos

A. Eritema infeccioso (quinta enfermedad)

La manifestación más común de la infección por parvovirus humano B19 es el eritema infeccioso, o quinta enfermedad. Esta enfermedad eritematosa es más común en niños en los primeros años de la edad escolar y en ocasiones afecta a los adultos. Los síntomas generales leves pueden acompañar al exantema que presenta el aspecto característico de "mejillas abofeteadas". En los casos de adultos, la afección de las articulaciones es un rasgo notable: las articulaciones de manos y rodillas son las más afectadas. Los síntomas simulan artritis reumatoide y la artropatía puede persistir durante semanas, meses o años.

El periodo de incubación suele ser de 1 a 2 semanas, pero puede extenderse hasta tres semanas. La viremia aparece una semana después de la infección y persiste casi cinco días. En el periodo de viremia, el virus se encuentra

en muestras de lavado nasal y gargarismos, lo cual identifica a las vías respiratorias superiores, más probablemente a la faringe, como sitio de propagación viral. La primera fase de la enfermedad se presenta al final de la primera semana; los síntomas son parecidos a los de la gripe, incluyen fiebre, malestar, mialgia, escalofríos y prurito. El primer episodio de la enfermedad coincide en el tiempo con la viremia y con la reticulocitopenia, y con la detección de complejos inmunitarios parvovirus-IgM circulantes. Después de un periodo de incubación de casi 17 días comienza una segunda fase de la enfermedad. La aparición de un exantema facial eritematoso, y otro en forma de cinturón en las extremidades o el tronco, puede ser acompañada por síntomas articulares, especialmente en adultos. La enfermedad es breve, el exantema desaparece luego de 2 a 4 días, aunque los síntomas articulares pueden persistir más tiempo.

B. Crisis aplásicas transitorias

El parvovirus B19 causa crisis aplásicas transitorias que pueden complicar la anemia hemolítica crónica, por ejemplo en pacientes con drepanocitemia, talasemias y anemia hemolítica adquirida del adulto. Las crisis aplásicas transitorias también pueden presentarse después del trasplante de médula ósea. El síndrome consiste en la interrupción brusca de la síntesis de eritrocitos en la médula ósea y se refleja en la

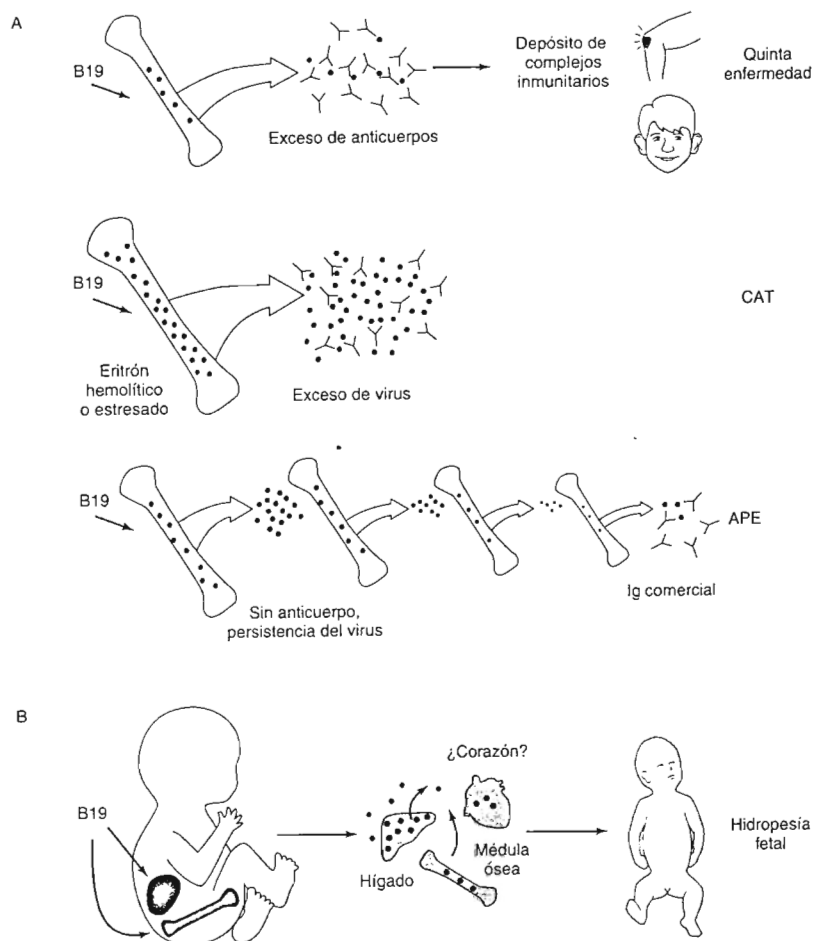


Figura 31-4. Patogenia de las enfermedades causadas por parvovirus B19. **A:** en niños y adultos (CAT, crisis aplásica transitoria; APE, aplasia pura de eritrocitos.) **B:** en las infecciones fetales. (Reproducido con autorización de Young NS: Parvoviruses. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

ausencia de precursores eritroides en la médula ósea, acompañada por un rápido empeoramiento de la anemia. La infección reduce la producción de eritrocitos y disminuye la concentración de hemoglobina en la sangre periférica. La detención transitoria de la producción de eritrocitos sólo se manifiesta en pacientes con anemia hemolítica crónica debido al breve periodo de vida de sus eritrocitos; en una persona normal no se espera que una interrupción de siete días en la eritropoyesis cause anemia detectable. Pocos pacientes con anemia presentan exantema. Los síntomas de crisis

aplástica transitoria se presentan durante la fase virémica de la infección.

C. Infección en pacientes inmunodeficientes

El B19 puede establecer infecciones persistentes y causar supresión crónica de la médula ósea y anemia crónica en pacientes inmunodeficientes. La enfermedad se denomina aplasia pura de eritrocitos. La anemia es grave y los pacientes dependen de transfusiones sanguíneas. Se ha observado

en poblaciones de pacientes con inmunodeficiencia congénita, procesos malignos, SIDA y trasplantes de órgano.

D. Infección durante el embarazo

La infección materna con el virus B19 puede plantear un riesgo grave al feto, a veces produce hidropesía y muerte fetal causadas por anemia grave. El riesgo global de infección por parvovirus humano durante el embarazo es bajo; la pérdida del feto tiene lugar en menos de 10% de los casos de infección materna primaria. La muerte fetal se presenta por lo general antes de la semana 20 del embarazo. Aun cuando es frecuente la transmisión intrauterina de parvovirus humanos, no existe evidencia de que la infección por B19 cause anomalías congénitas.

E. Misceláneas

Las infecciones por B19 se han relacionado con un gran número de enfermedades, aunque la participación patogénica del virus, si existe, todavía no se establece. Estas enfermedades incluyen diversos trastornos cardiovasculares, dermatológicos, hematológicos, hepáticos, neurológicos, renales, respiratorios y reumáticos.

Diagnóstico de laboratorio

Las pruebas más sensibles para el virus detectan el DNA viral. Las pruebas disponibles son reacción en cadena de la polimerasa (PCR), hibridación por sonda de suero o extractos de tejido e hibridación *in situ* de tejido fijo. La PCR es el estudio más sensible. El DNA del B19 se ha detectado en suero, células sanguíneas, muestras de tejido y secreciones de las vías respiratorias.

Para la medición de anticuerpos se utilizan análisis serológicos basados en antígenos recombinantes de parvovirus producidos *in vitro* a través del empleo de sistemas de expresión bacterianos o de baculovirus. La detección del anticuerpo IgM contra el B19 indica infección reciente; se presenta de 2 a 3 meses después de la infección. El anticuerpo IgG contra el B19 persiste durante años, aunque puede no ser así en pacientes inmunodeficientes con infección crónica por el B19. En esos pacientes, la infección crónica se diagnostica mediante la detección de DNA viral.

Los estudios de detección de antígeno identifican virus de título alto en muestras clínicas. La inmunohistoquímica se ha usado para detectar antígenos de B19 en tejidos fetales y en médula ósea.

Es difícil cultivar el virus. El aislamiento del virus no se usa para detectar la infección.

Epidemiología

El virus B19 está ampliamente propagado, las infecciones pueden presentarse durante todo el año, en todos los grupos de edad, y como brotes o casos esporádicos. Las infecciones se observan más comúnmente como brotes en escuelas. La infección por parvovirus es frecuente en la infancia; los anticuerpos se desarrollan principalmente entre las edades de 5 y 19 años. Hasta 60% de todos los adultos y 90% de los adultos mayores son seropositivos.

Al parecer, la infección se transmite por medio de las vías respiratorias. Los virus son estables en el medio, y las superficies contaminadas también están involucradas en la transmisión. La transferencia entre hermanos tal vez es un modo importante de transmisión. El origen de la infección materna durante el embarazo suele ser el hijo mayor de la mujer. Muchas infecciones son subclínicas. La tasa de ataque estimada en contactos susceptibles varía de 20 a 50%.

Se ha comprobado la transmisión de pacientes con el B19 con crisis aplásicas a miembros del personal del hospital. Es probable que los pacientes con crisis aplásica sean infectantes durante el curso de la enfermedad, en tanto que los pacientes con quinta enfermedad quizá ya no lo sean en el momento que se inicia el exantema.

Tratamiento

El tratamiento de la quinta enfermedad y de la crisis aplásica transitoria es sintomático. Esta última podría requerir terapia de transfusión.

Las preparaciones comerciales de inmunoglobulina contienen anticuerpos neutralizantes contra el parvovirus humano; pueden utilizarse para curar o mitigar las infecciones por B19 persistentes en pacientes inmunodeficientes y en aquellos con anemia.

Prevención y control

No existe vacuna contra el parvovirus humano, aunque hay buenas probabilidades de desarrollar una. Se conocen vacunas eficaces contra parvovirus animales en gatos, perros y cerdos. No hay tratamiento antiviral con fármacos.

Las prácticas adecuadas de higiene, como lavarse las manos y no compartir bebidas, deben ayudar a evitar la difusión de B19 por secreciones respiratorias, aerosoles y fomites. Deben adoptarse prácticas para controlar la infección y evitar la transmisión del B19 a los trabajadores de la salud por pacientes con crisis aplásica y por pacientes inmunodeficientes con infección crónica con B19.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. ¿Qué describe mejor una propiedad fisicoquímica de los parvovirus?
 - A. Partícula de virus envuelta
 - B. Genoma de DNA de una sola hebra
 - C. La infectividad se desactiva mediante tratamiento con éter
 - D. El virión exhibe simetría helicoidal
 - E. El virión tiene más o menos el mismo tamaño que el virus de herpes
2. Un niño de ocho años de edad acaba de padecer eritema infeccioso. Su mamá, de 33 años de edad presentó después artralgia seguida de artritis dolorosa con inflamación en las articulaciones pequeñas de ambas manos. Además del tropismo evidente de las articulaciones, ¿para qué tipo de célula es altamente trópico el parvovirus humano B19 ?

- A. Linfocitos CD4 T
 - B. Células del túbulo renal
 - C. Células eritroides
 - D. Células gliales
 - E. Placas de Peyer
3. El niño de ocho años de edad de la pregunta 2 tiene una enfermedad con más de una fase. ¿Cuáles síntomas coinciden con la segunda fase de la enfermedad?:
- A. Ardor de garganta
 - B. Exantema cutáneo
 - C. Cefalea
 - D. Diarrea
 - E. Tos
4. Un hombre de 42 años de edad con VIH/SIDA se presenta con anemia aplásica. Por medio de la reacción en cadena de la polimerasa se detectó parvovirus B19 en plasma. Es probable que el paciente haya adquirido la infección por parvovirus B19 de otra persona. Cuál es la ruta más probable de transmisión:
- A. Por contacto con secreciones o gotitas respiratorias
 - B. Por contacto con exantema cutáneo
 - C. A través de actividad sexual
 - D. Por medio de una transfusión sanguínea reciente
5. ¿Cuál de las siguientes es una enfermedad en la que no se ha establecido la función del parvovirus B19?:
- A. Eritema infeccioso (quinta enfermedad)
 - B. Crisis aplásica transitoria
 - C. Hidropesía fetal
 - D. Hepatitis fulminante
6. ¿Cuál es la mejor descripción de la duplicación del parvovirus humano B19?:
- A. Estimula la proliferación de células en reposo
 - B. Utiliza el antígeno P del grupo sanguíneo como receptor celular
 - C. Establece con facilidad infecciones persistentes
 - D. El ciclo de duplicación completo tiene lugar en el citoplasma
 - E. La producción de progenie infecciosa requiere la presencia de un virus colaborador
7. ¿Cuál de los siguientes enunciados es más preciso en relación con infecciones humanas por parvovirus B19?:
- A. El parvovirus B19 se transmite con facilidad mediante contacto sexual
 - B. Los pacientes con enfermedad diseminada causada por parvovirus B19 se deben tratar con aciclovir
 - C. El parvovirus B19 no causa ninguna enfermedad humana
 - D. No hay vacuna para el parvovirus humano

Respuestas: 1 = B; 2 = C; 3 = B; 4 = A; 5 = D; 6 = B; 7 = d

REFERENCIAS

- Azzi A, Morfini M, Mannucci PM: The transfusion-associated transmission of parvovirus B19. *Transfusion Med Rev* 1999;13:194.
- Faist S, Rommelaere J (editors): *Parvoviruses: From Molecular Biology to Pathology and Therapeutic Uses*. Karger, 2000.
- Magro CM, Dawood MR, Crowson AN: The cutaneous manifestations of human parvovirus B19 infection. *Hum Pathol* 2000;31:488.
- Parrish CR: Molecular epidemiology of parvoviruses. *Semin Virol* 1995;6:415.
- Saldanha J et al.: Establishment of the first World Health Organization International Standard for human parvovirus B19 DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang* 2002;82:24.

Los ac
en los
los oje
cas, y
ped. C
conoci
human
los pa
sistem
y bioc

PRO

En el
de los

Estru

Los ac
simetr
sómer
87% d
timado
entre
denom
los 12
El rest
hexon
tígenos
y el di
E
Se con
mas de
tipo 2
guanin
el grup
más or
uno de
manos
cada p
extrem
variant

Adenovirus

Los adenovirus pueden replicarse y producir enfermedad y en los aparatos respiratorio, gastrointestinal, urinario y en los ojos. Muchas infecciones por adenovirus son subclínicas, y los virus pueden persistir durante meses en el huésped. Cerca de la tercera parte de los 49 serotipos humanos conocidos causan la mayoría de los casos de enfermedad humana por adenovirus. Algunos tipos sirven como modelos para inducir cáncer en animales. Los adenovirus son sistemas especialmente valiosos para estudios moleculares y bioquímicos de los procesos en las células eucariotes.

PROPIEDADES DE LOS ADENOVIRUS

En el cuadro 32-1 se muestran las propiedades importantes de los adenovirus.

Estructura y composición

Los adenovirus tienen 70 a 90 nm de diámetro y muestran simetría icosaédrica, con cápsides compuestas de 252 capsómeros. Carecen de envoltura, y contienen 13% de DNA y 87% de proteínas. La partícula tiene un peso molecular estimado de $150-180 \times 10^6$. Los adenovirus son peculiares entre los virus icosaédricos porque tienen una estructura denominada "fibra", la cual se proyecta desde cada uno de los 12 vértices o bases de la pentona (figuras 32-1 y 32-2). El resto de la cápside se compone de 240 capsómeros tipo hexona. Hexonas, pentonas y fibras son los principales antígenos del adenovirus, importantes para la clasificación viral y el diagnóstico de las enfermedades.

El DNA (de 26 a 45 kpb) es lineal y de doble cadena. Se conocen las secuencias íntegras del DNA de los genomas de varios tipos de adenovirus. Los genomas virales del tipo 2 contienen 36 000 pares de bases. El contenido de guanina-más-citosina del DNA es más bajo (48 a 49%) en el grupo A de los adenovirus (tipos 12, 18 y 31), los tipos más oncogénicos, y varía hasta 61% en otros tipos. Este es uno de los criterios empleados para agrupar los virus humanos aislados. El DNA viral contiene una proteína codificada por el virus unida mediante enlaces covalentes a cada extremo 5' del genoma lineal. El DNA se puede aislar en la variante infectante, y la infectividad relativa de este DNA

disminuye al menos 100 veces si se retira la proteína terminal mediante proteólisis. El DNA se condensa en el núcleo del virión: una proteína codificada por el virus, polipéptido VII (figura 32-2B), es importante para formar la estructura del núcleo.

Se estima que existen alrededor de 11 proteínas en el virión; en la figura 32-2B se muestran sus posiciones en la estructura del virión. Los capsómeros hexonas y pentonas son los principales componentes sobre la superficie de la partícula virus. Hay epitopos específicos de grupo y de tipo tanto en la hexona como en las fibras polipeptídicas. Todos los adenovirus humanos muestran esta hexona de antigenicidad común. Las pentonas aparecen en los 12 vértices de la cápside y muestran fibras que sobresalen de ellos. La base pentona tiene actividad parecida a una toxina causante de la rápida aparición de efectos citopáticos y del desprendimiento de las células de la superficie de cultivo y crecimiento. La base pentona posee otro antígeno reactivo de grupo. Las fibras contienen antígenos de tipo específico importantes en la serotipificación. Las fibras se vinculan con la actividad hemaglutinante. Puesto que la hemaglutinina es específica de tipo, comúnmente se pueden emplear pruebas de inhibición de la hemaglutinación HI para tipificar los virus aislados. Sin embargo, es posible recuperar aislados recombinantes que dan reacciones discordantes en los análisis de neutralización (Nt) y de HI.

Cuadro 32-1. Propiedades importantes de los adenovirus

Virión: icosaédrico, 70-90 nm de diámetro, 252 capsómeros; fibras que se proyectan a partir de cada vértice
Composición: DNA (13%), proteína (87%)
Genoma: DNA de doble cadena, lineal, 26-45 kpb proteína unida a los extremos, infectante
Proteínas: los antígenos importantes (hexona, base de pentona, fibras) están relacionados con las principales proteínas externas de la cápside
Envoltura: ninguna
Replicación: núcleo
Características notables: modelos excelentes para estudios moleculares de los procesos de las eucariotes

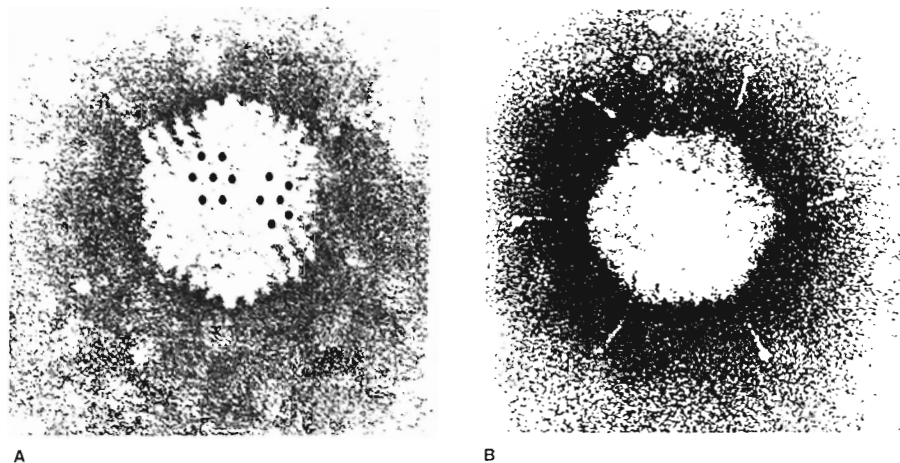


Figura 32-1. Micrografía electrónica del adenovirus. **A:** la partícula viral muestra simetría cúbica y carece de envoltura. Un capsómero hexona (rodeado por 6 hexonas idénticas) y un capsómero pentona (rodeado por 5 hexonas) están marcados con puntos. **B:** nótese la estructura fibrosa que se proyecta desde el vértice de los capsómeros pentonas (285 000 $\times$). (Reproducido con autorización de Valentine RC, Pereira HG: Antigens and structure of the adenovirus. J Mol Biol 1965;13:13.)

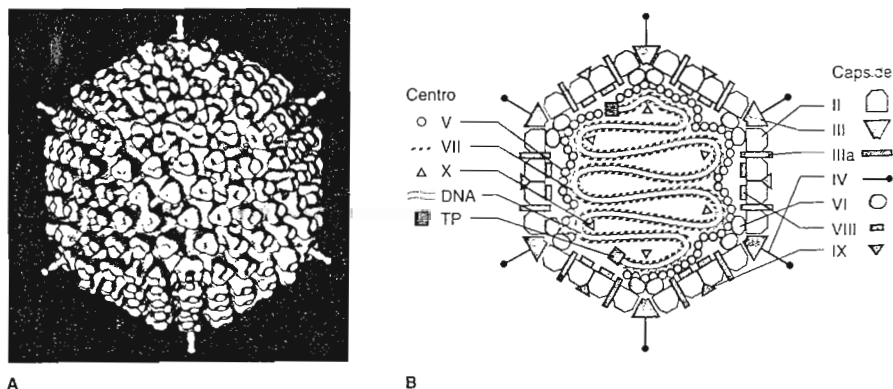


Figura 32-2. Modelos del virión del adenovirus. **A:** reconstrucción de una imagen tridimensional de la partícula de adenovirus intacta vista a lo largo de un triple eje icosaédrico. (Reproducido con autorización de Stewart PL et al.: Image reconstruction reveals the complex molecular organization of adenovirus. Cell 1991;67:145. Copyright © 1991 by Cell Press.) **B:** corte estilizado de la partícula de adenovirus mostrando los componentes polipeptícos y el DNA. En ningún corte verdadero del virión icosaédrico se podrían observar todos los componentes. Los constituyentes del virión se designan por el número de sus polipéptidos, con excepción de la proteína terminal (TP; del inglés *terminal protein*). (Reproducido con autorización de Stewart PL, Burnett RM: Adenovirus structure as revealed by X-ray crystallography, electron microscopy and difference imaging. Jpn J Appl Phys 1993;32:1342.)

Clasificación

Se han recuperado adenovirus de una amplia variedad de especies y se les agrupa en dos géneros: uno que infecta aves (*Aviadenovirus*) y otro que infecta mamíferos (*Mastadenovirus*). Al menos se conocen 49 tipos distintos de antígenos de humanos y muchos otros tipos en varios animales.

Los adenovirus humanos se dividen en seis grupos (A a F) con base en sus propiedades físicas, químicas y biológicas (cuadro 32-2). Los adenovirus de un determinado grupo poseen fibras de una longitud característica, muestran homología considerable del DNA (más de 85%, en comparación con menos de 20% con miembros de otros grupos), y capacidad similar para aglutinar eritrocitos, sean de mono o de rata. Los miembros de un grupo determinado de adenovirus se parecen entre sí en el contenido de guanina más citosina del DNA y en su potencial para producir tumores en roedores recién nacidos. Es importante notar que los virus de un grupo tienden a comportarse de manera similar respecto de la propagación epidemiológica y su relación con la enfermedad.

Replicación de los adenovirus

Los adenovirus se replican de manera satisfactoria sólo en células de origen epitelial. El ciclo de replicación se divide en eventos iniciales y tardíos. La expresión cuidadosamente regulada de eventos secuenciales en el ciclo del adenovirus se resume en la figura 32-3. La distinción entre eventos tempranos y tardíos no es absoluta en las células infectadas; los genes tempranos continúan expresándose a través de todo el ciclo; unos pocos genes comienzan su expresión en momentos "intermedios"; y poco después de la infección la transcripción de genes tardíos puede presentarse en bajos niveles.

A. Adhesión, penetración y pérdida de la envoltura del virus

El virus se adhiere a las células por medio de estructuras fibrosas. El receptor de la célula huésped para algunos se-

rotipos es el receptor de adenovirus Coxsackie (CAR, del inglés *coxsackie-adenovirus receptor*), un miembro de la superfamilia de genes de inmunoglobulina. La interacción de la base pentona con las integrinas celulares promueve la introducción a la célula. Por tanto, adsorción e introducción son pasos separados en el proceso de infección por adenovirus, los cuales requieren la interacción de fibras y proteínas pentonas con las diferentes proteínas blanco en la célula. El virus adsorbido se introduce en los endosomas; la mayor parte de las partículas (aproximadamente 90%) se desplaza rápidamente (vida media aproximada de 5 min) de los endosomas al citosol por un proceso desencadenado por el pH ácido del endosoma. Tal vez participan microtúbulos en el transporte de las partículas virales a través del citoplasma hacia el núcleo. La pérdida de la cubierta comienza en el citoplasma y concluye en el núcleo con liberación del DNA tal vez en la membrana nuclear. La pérdida de la cubierta es un proceso secuencial organizado que rompe de manera sistemática las interacciones estabilizadoras establecidas durante la maduración de la partícula viral.

B. Eventos iniciales

Las etapas que tienen lugar antes del inicio de la síntesis del DNA viral se definen como eventos iniciales. Su objetivo es inducir a las células huésped a entrar a la fase S del ciclo celular para generar las condiciones que conduzcan a la replicación del virus, a la expresión de las funciones virales que protegen a la célula infectada de los mecanismos de defensa del huésped, y a la síntesis de productos génicos virales necesarios para la replicación del DNA viral.

Los transcritos iniciales ("E") provienen de siete regiones muy separadas del genoma viral y de ambas cadenas del DNA viral. Más de 20 proteínas tempranas, muchas de las cuales no son estructurales y participan en la replicación del DNA viral, se sintetizan en células infectadas por el adenovirus. El gen inicial E1A tiene especial importancia; debe expresarse para que las otras regiones iniciales sean transcritas. La modulación del ciclo celular se logra gracias a los productos del gen E1A. La región inicial E1B codifica las proteínas que bloquean la muerte celular (apop-

Cuadro 32-2. Esquemas para la clasificación de los adenovirus humanos

Grupo	Serotipos	Hemaglutinación		Porcentaje de G + C ¹ en el DNA	Potencial oncogénico	
		Grupo	Resultados		Tumorigenicidad <i>in vivo</i> ²	Transformación de células
A	12, 18, 31	IV	Ninguna	48 a 49	Alta	+
B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35	I	Mono (completa)	50 a 52	Moderada	+
C	1, 2, 5, 6	III	Rata (parcial)	57 a 59	Escasa o nula	+
D	8 a 10, 13, 15, 17, 19, 20, 22 a 30, 32, 33, 36 a 39, 42 a 47	II	Rata (completa)	57 a 61	Escasa o nula ³	+
E	4	III	Rata (parcial)	57	Escasa o nula	+
F	40, 41	III	Rata (parcial)	57 a 59	Escasa o nula	+

¹ Guanina más citosina.

² Inducción de tumor en hámsters recién nacidos.

³ El adenovirus 9 puede inducir tumor mamario en las ratas.

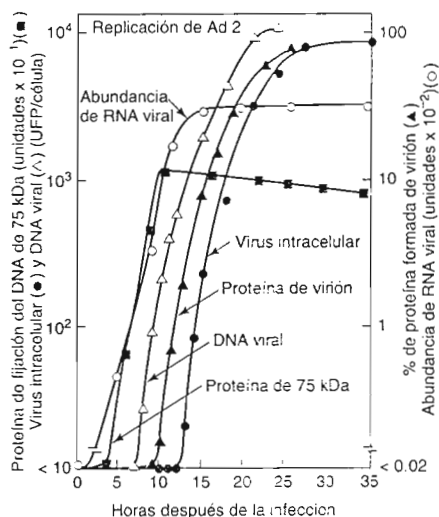


Figura 32-3. Curso temporal del ciclo de replicación del adenovirus. El tiempo transcurrido entre la infección y la primera aparición de la progenie viral es el período de eclipse. Nótese la regulación secuencial de eventos específicos en el ciclo de replicación del virus. "UFP" significa "unidad formadora de placa", una medida de la infectividad del virus. (Tomado de M. Green.)

tosis) provocada por las funciones del E1A; esto es necesario para evitar la muerte prematura de la célula que afectaría de manera adversa la producción de virus. Las regiones E1A y E1B sólo contienen los genes del adenovirus implicados en la transformación celular, ya que sus productos génicos se unen a las proteínas celulares (p. ej., pRB, p300, p53) que regulan el avance del ciclo celular. Las proteínas iniciales están representadas por la proteína unida al DNA de 75 kDa que se muestra en la figura 32-3.

C. Replicación del DNA viral y eventos tardíos

La replicación del DNA viral tiene lugar en el núcleo. La proteína terminal, unida por enlaces covalentes y codificada por el virus, funciona como cebador para comenzar la síntesis de DNA viral.

Los eventos tardíos comienzan concomitantemente con el inicio de la síntesis del DNA viral. El principal promotor tardío controla la expresión de los genes tardíos ("L") que codifican las proteínas estructurales virales. Hay un solo transcrito primario de gran tamaño (aproximadamente 29 000 nucleótidos de extensión) que se procesa por "splicing" para generar al menos 18 mRNA tardíos diferentes. Estos mRNA se agrupan (L1 a L5) con base en el empleo de sitios de adición poli(A) comunes. Los transcritos procesados se transportan al citoplasma, donde se sintetizan las proteínas virales.

Aunque los genes del huésped se continúan transcribiendo tardíamente en el núcleo en el curso de la infección, pocas secuencias genéticas del huésped llegan al citoplasma. Un complejo que implica al polipéptido E1B 55-kDa, así como el polipéptido E4 34-kDa, inhibe la acumulación de mRNA celular en el citoplasma y esto facilita la acumulación del mRNA viral, quizá mediante la reubicación de un presunto factor celular necesario para el transporte del mRNA. Se elaboran cantidades muy grandes de proteínas estructurales virales.

Es digno de notar que los estudios con la hexona del mRNA de adenovirus condujeron a descubrir que el mRNA eucariote generalmente no es colineal con sus genes, sino que son productos procesados por *splicing* de regiones codificantes separadas en el DNA genómico.

D. Ensamblado y maduración virales

La morfogénesis del virión tiene lugar en el núcleo. Cada capsómero hexona es un trimero de polipéptidos idénticos. La pentona se compone de cinco polipéptidos pentona base y tres polipéptidos fibra. Una "proteína molde" tardía codificada L4 ayuda en la agregación de los polipéptidos hexona, pero no forma parte de la estructura final.

Los capsómeros se autoensamblan en el núcleo y forman cápsides vacías. El DNA desnudo penetra entonces a la cápside preformada. Un elemento del DNA de acción *cis* cercano al extremo izquierdo del cromosoma viral sirve como señal de empacamiento necesaria para el reconocimiento entre cápside y DNA. Otra proteína viral molde, codificada en el grupo L1, facilita la encapsidación del DNA. Por último, se escinden los precursores de las proteínas del núcleo, permitiendo a la partícula consolidar su configuración, y se añaden algunas o todas las pentonas. Una cisteína proteinasa viral codificada funciona en algunos de los rompimientos de las proteínas precursoras. Por tanto, la partícula madura es estable, infectante y resistente a las nucleasas. El ciclo infectante del adenovirus dura aproximadamente 24 h. El proceso de ensamblaje es eficaz: cerca de 80% de los capsómeros de hexón y 90% de DNA viral no se usan. Sin embargo, se producen cerca de 100 000 partículas de virus por célula. Las proteínas estructurales vinculadas con las partículas virales maduras se clasifican en la figura 32-2B.

E. Efectos del virus sobre los mecanismos de defensa del huésped

Los adenovirus codifican varios productos génicos que contrarrestan los mecanismos de defensa antivirales del huésped. El RNA AV pequeño y abundante logra protegerse del efecto antiviral del interferón previniendo la activación de una cinasa inducible por interferón que fosforila e inactiva el factor 2 de iniciación eucariote. Las proteínas de la región E3 del adenovirus, que no son indispensables para el crecimiento viral en cultivo de tejido, inhiben la citólisis del huésped contra las células infectadas. La proteína E3 gp19-kDa bloquea el movimiento del antígeno MHC de la clase I hacia la superficie de la célula, y así protege a las células infectadas de la lisis mediada por el linfocito T citotóxico (CTL). Otras proteínas codificadas por E3 bloquean la inducción de citólisis por la citocina TNF- α .

F. Efectos del virus sobre las células

Los adenovirus son citopáticos en cultivo de células humanas, en particular de células primarias de riñón y células epiteliales continuas. El efecto citopático por lo general consiste en aumento de volumen, redondeamiento y agregación de las células afectadas en racimos como de uvas. Las células infectadas no sufren lisis aunque se vuelvan redondas y abandonen la superficie de vidrio sobre la cual crecieron.

En las células infectadas con algunos tipos de adenovirus se observan inclusiones redondas intranucleares que contienen DNA (figura 32-4). Estas inclusiones nucleares pueden confundirse con las del citomegalovirus, pero las infecciones con adenovirus no inducen sincitios o células gigantes multinucleadas. Aunque los cambios citológicos no son patognomónicos de los adenovirus, son útiles para el diagnóstico en las muestras de cultivo de tejidos y de biopsia.

Las partículas virales en el núcleo celular frecuentemente muestran arreglos cristalinicos. Las células infectadas con virus del grupo B también contienen cristales compuestos de proteína sin ácido nucleico. Las partículas virales permanecen en la célula después de concluir el ciclo y aunque la célula haya muerto.

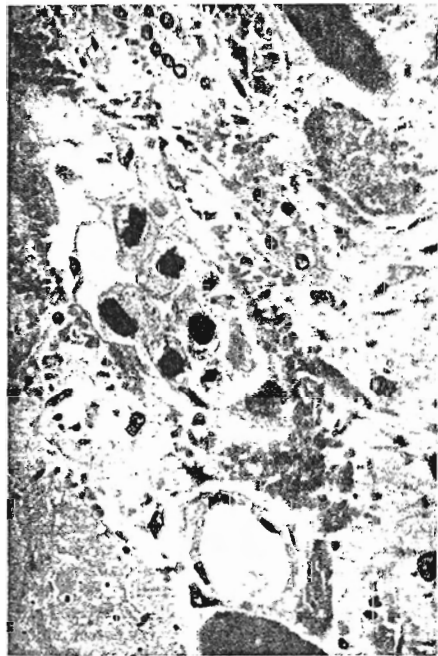


Figura 32-4. Citopatología del adenovirus en tejido humano. Células epiteliales tubulares con cuerpos de inclusión basofílicos de un paciente con nefritis tubulointersticial necrosante (450 x). (Cortesía de M Ito.)

Los adenovirus humanos muestran una estrecha variedad de huéspedes. Cuando infecta células derivadas de otras especies diferentes de la humana, el adenovirus humano por lo general sufre un ciclo abortivo de replicación y no se produce progenie infectante.

Terapia génica

Cada vez es mayor el interés en el posible empleo de los adenovirus como vehículos para el transporte de genes para terapia génica o vacunación de DNA. Los adenovirus son atractivos puesto que la replicación de los virus defectuosos puede producir lisis del endosoma después que el virus entra a la célula, y liberar el DNA en el citoplasma. Se ha logrado introducir eficientemente DNA extraño mediante el acoplamiento químico del DNA de interés con las partículas del adenovirus.

Susceptibilidad animal y transformación de células

La mayor parte de los animales de laboratorio no se infectan fácilmente con los adenovirus humanos, aunque los hámsters recién nacidos sufren infección mortal con el tipo 5. Varios serotipos, en especial los tipos 12, 18 y 31, pueden inducir tumores cuando se inoculan a hámsters recién nacidos (cuadro 32-2). Todos los adenovirus pueden transformar morfológicamente a las células en cultivo, cualquiera que sea su potencial oncogénico *in vivo* (véase capítulo 43). Sólo una pequeña parte (< 20%) del genoma del adenovirus se encuentra presente en la mayor parte de las células transformadas.

En los adenovirus humanos, los genes transformantes se localizan en la región inicial (E1A y E1B) al extremo izquierdo del genoma viral. Una excepción es el tipo 9; para generar tumores mamarios en ratas se requiere el gen E4. Los estudios en los genes transformantes de los adenovirus revelan alteración de los mecanismos de control del crecimiento celular en muchos tipos de células cancerosas.

La naturaleza altamente oncogénica del adenovirus tipo 12 puede relacionarse con la observación de que un efecto de su región inicial es suprimir la síntesis de los antígenos principales de histocompatibilidad de la clase I (H2 o HLA) en algunas células infectadas y transformadas, evitando así la destrucción por la célula T.

Se cree que los adenovirus no son importantes en el cáncer humano.

INFECCIÓN POR ADENOVIRUS EN HUMANOS

Patogenia

Los adenovirus infectan y se replican en las células epiteliales de las vías respiratorias, ojo, aparato gastrointestinal, vejiga e hígado. Por lo regular, no se propagan más allá de los ganglios linfáticos regionales. Los virus del grupo C persisten como infección latente durante años en adenoides

y amígdalas y aún se eliminan en las heces muchos meses después de la infección inicial. De hecho, el nombre "adenovirus" refleja la recuperación del aislado inicial a partir de explantes de adenoides humana.

La mayor parte de los adenovirus humanos crece en el epitelio intestinal después de ser ingeridos, pero generalmente producen infección subclínica en vez de síntomas evidentes.

Datos clínicos

Casi una tercera parte de los serotipos humanos conocidos suelen relacionarse con enfermedad humana. Se debe notar que un solo serotipo puede causar diferentes enfermedades clínicas y, por el contrario, más de un tipo pueden causar la misma enfermedad clínica. Los adenovirus 1 a 7 son los tipos más comunes alrededor del mundo y explican la mayor parte de los casos de enfermedades relacionadas con adenovirus.

Los adenovirus causan casi 5% de las enfermedades respiratorias agudas en niños pequeños, pero son mucho menos comunes en los adultos. La mayor parte de las infecciones son leves y autolimitadas. En ocasiones los virus causan enfermedad en otros órganos, sobre todo en el ojo y en el aparato gastrointestinal.

A. Enfermedades respiratorias

Los síntomas comunes son tos, congestión nasal, fiebre y ardor de garganta. Este síndrome se manifiesta con más frecuencia en infantes y niños y, por lo común, tiene que ver con virus del grupo C. Estos casos son difíciles de distinguir de otras infecciones respiratorias virales leves que podrían exhibir síntomas similares.

Se piensa que los adenovirus —en particular los tipos 3, 7 y 21— son los causantes de alrededor de 10 a 20% de neumonías en la infancia. Los informes indican que la neumonía adenoviral tiene una tasa de mortalidad de 8 a 10% en los más jóvenes.

Los adenovirus son la causa de un síndrome de enfermedad respiratoria aguda entre los reclutas militares. Este síndrome se caracteriza por fiebre, ardor de garganta, congestión nasal, tos y malestar general, que en ocasiones produce neumonía. Se presenta en forma epidémica entre reclutas militares jóvenes en condiciones de fatiga, estrés y aglomeración después de la inducción. Los tipos 4 y 7, y en ocasiones el tipo 3, causan esta enfermedad. Debido a la falta de vacuna, el ejército de E.U.A dejó de vacunar contra adenovirus (tipos 4 y 7) en el decenio de 1990-99; a esto le siguieron grandes epidemias que afectaron a miles de reclutas.

B. Infecciones oculares

La afección ocular leve puede ser parte de los síndromes respiratorio-faríngeos causados por los adenovirus. La fiebre faringoconjuntival tiende a presentarse en brotes, como en los campamentos de verano de los niños ("conjuntivitis de alberca"), y se relaciona con los tipos 3 y 7. La duración de la conjuntivitis es de 1 a 2 semanas, y el resultado común es la recuperación completa sin ninguna secuela duradera.

Una enfermedad más grave es la queratoconjuntivitis epidémica. Esta enfermedad se presenta sobre todo en adul-

tos y es muy contagiosa. Los adenovirus permanecen viables durante varias semanas en fregaderos y toallas de manos, y podrían ser una fuente de transmisión. La enfermedad se caracteriza por conjuntivitis aguda, seguida de queratitis, que por lo general desaparece en dos semanas, pero podría dejar opacidades subepiteliales en la córnea hasta por dos años. La causa son los tipos 8, 19 y 37.

C. Enfermedad gastrointestinal

Muchos adenovirus se replican en las células intestinales y se encuentran en las heces, pero la presencia de los tipos comunes no se acompaña de enfermedad gastrointestinal. Sin embargo, dos serotipos (tipos 40 y 41) se han relacionados etiológicamente con gastroenteritis infantil y pueden explicar de 5 a 15% de los casos de gastroenteritis viral en niños de corta edad. Los adenovirus tipos 40 y 41 son abundantes en las heces diarreicas. Los adenovirus entéricos son muy difíciles de cultivar.

D. Otras enfermedades

Los tipos 11 y 21 pueden causar cistitis hemorrágica aguda en niños, sobre todo de sexo masculino. Por lo general, los virus aparecen en la orina de estos pacientes.

Los pacientes inmunodeficientes pueden sufrir infecciones por adenovirus, que pueden ser de leves a severas. En pacientes con trasplante, el problema más común causado por infección con adenovirus es la neumonía grave, que puede ser mortal (por lo general los tipos 1 a 7). Los niños a quienes se practica trasplante de hígado pueden desarrollar hepatitis por adenovirus en el aloinjerto. Además, los niños con trasplantes de corazón que desarrollan infecciones miocárdicas por adenovirus tienen mayor riesgo de pérdida de injerto. Los pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) pueden sufrir infección por adenovirus, en especial en el aparato gastrointestinal.

Inmunidad

Al contrario de lo que sucede en la mayor parte de los agentes infecciosos respiratorios, los adenovirus inducen inmunidad eficaz y persistente contra la reinfección. Esto puede reflejar el hecho de que los adenovirus también infectan ganglios linfáticos regionales y las células linfoides en el sistema gastrointestinal. La resistencia a presentar enfermedad clínica parece relacionarse de manera directa con la presencia de anticuerpos circulantes neutralizantes. Aunque los anticuerpos neutralizantes de tipo específico pueden proteger contra los síntomas de la enfermedad, no siempre evitan la reinfección. (Con frecuencia, las infecciones con adenovirus cursan sin enfermedad declarada.)

Los anticuerpos maternos casi siempre protegen a los lactantes contra la infección respiratoria grave por adenovirus. Se han detectado anticuerpos neutralizantes contra uno o más tipos en más de 50% de los lactantes de 6 a 11 meses de edad. Por lo general, los adultos sanos poseen anticuerpos a varios tipos.

Mediante pruebas de fijación de complemento (FC), inmunofluorescencia (IF) o ELISA se puede medir una respuesta de anticuerpos reactivos de grupo, diferente del anticuerpo neutralizante específico de tipo. Los anticuerpos

específicos de grupo no son protectores, declinan con el tiempo y no revelan los serotipos de las infecciones virales previas.

Diagnóstico de laboratorio

A. Detección, aislamiento e identificación de virus

Las muestras se deben recolectar de los sitios que afectó primero la enfermedad para optimizar el aislamiento del virus. Según la enfermedad clínica, los virus pueden obtenerse de heces, orina, o bien, frotis faríngeos, conjuntivales o rectales. La duración de la excreción de los adenovirus varía en las diferentes enfermedades: 1 a 3 días en la faringe de los adultos con catarro común; 3 a 5 días en faringe, heces y ojos para la fiebre faringoconjuntival; dos semanas en el ojo para la queratoconjuntivitis; 3 a 6 semanas en faringe y heces de niños con enfermedad respiratoria; 2 a 12 meses en orina, faringe y heces de pacientes inmunodeficientes.

El aislamiento del virus en cultivo de células requiere células humanas. Las células primarias de riñón embrionario humano son más susceptibles, pero por lo general no están disponibles. Líneas establecidas de células epiteliales humanas, como HEP-2, HeLa y KB son sensibles, pero difíciles de mantener y sufren degeneración durante el tiempo requerido para detectar algunos aislados naturales de crecimiento lento (28 días). El desarrollo de los efectos citopáticos característicos, redondeamiento y formación de grumos de células hinchadas indica la presencia de adenovirus en los cultivos inoculados. Los adenovirus aumentan la glucólisis en las células, de modo que el medio de crecimiento tiende a ser más ácido en cultivos infectados. Los aislados se pueden identificar como adenovirus mediante pruebas de inmunofluorescencia, empleando un anticuerpo antihexona y células infectadas. Las pruebas HI y NI miden antígenos específicos de tipo y se pueden utilizar para identificar serotipos específicos.

La detección de los adenovirus puede ser más rápida con la técnica del "frasco ampolla". Las muestras virales se centrifugan de manera directa en células del cultivo de tejido; se incuban el cultivo durante 1 a 2 días y luego se somete a prueba con anticuerpos monoclonales dirigidos contra un epítipo de grupo reactivo sobre el antígeno hexona. Además, las células epiteliales nasales del paciente se pueden teñir directamente para así detectar los antígenos virales.

La caracterización del DNA viral por hibridación o por patrones de digestión con endonucleasa puede identificar y aislar un adenovirus y determinar su grupo. Estas técnicas son especialmente útiles para tipos difíciles de cultivar. Los análisis con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) pueden utilizarse para el diagnóstico de infecciones por adenovirus, en muestras de tejido o líquidos corporales, por lo general mediante la utilización de oligonucleótidos de una secuencia viral conservada (p. ej., hexona, VA I) que permita detectar todos los serotipos. Sin embargo, debido a la sensibilidad del análisis con la PCR a veces detecta adenovirus latentes en algunos pacientes.

Los adenovirus entéricos difíciles de crecer pueden detectarse por examen directo de extractos fecales exami-

nados con microscopía electrónica, mediante ELISA. Se pueden aislar con dificultad en una línea de células renales embrionarias humanas transformadas con un fragmento del DNA del adenovirus 5 (293 células).

Puesto que los adenovirus pueden persistir en el intestino y el tejido linfático durante periodos prolongados, y la recrudescencia de la propagación viral puede desencadenarse con otras infecciones, el significado del aislamiento viral debe interpretarse con cautela. La presencia de virus en ojo, pulmón o aparato genital es diagnóstica de infección en curso. El aislamiento de virus en las secreciones de la faringe de un paciente con enfermedad respiratoria puede considerarse pertinente para la enfermedad clínica. Los virus aislados de muestras fecales no son prueba concluyente, salvo cuando se recupera uno de los tipos difíciles de cultivar en un paciente con gastroenteritis.

B. Serología

La infección de humanos con cualquier tipo de adenovirus estimula el aumento de los títulos de anticuerpos fijadores del complemento para antígenos compartidos por todos los tipos del grupo de adenovirus. La prueba de FC es un método fácil de aplicar para las infecciones por cualquier miembro de los grupos de adenovirus. Un incremento de cuatro veces o mayor en el título de anticuerpos fijadores del complemento entre el suero de fase aguda y el de fase convalescente indica infección en curso con adenovirus, aunque no suministra indicios con respecto al tipo específico implicado.

Cuando debe identificarse la respuesta serológica del paciente, pueden emplearse las pruebas de NI o HI. En la mayor parte de los casos, en las personas infectadas muestran un aumento de cuatro veces o mayor en el título del anticuerpo neutralizante contra el tipo de adenovirus recuperado del paciente.

Epidemiología

Los adenovirus existen en todas partes del mundo. Se presentan todo el año y no causan brotes de enfermedad en la comunidad. Los serotipos más comunes en muestras clínicas son los tipos respiratorios de número bajo (1, 2, 3, 5, 7) y los tipos de gastroenteritis (40, 41). Los adenovirus se diseminan por contacto directo, por la ruta fecal-oral, por gotitas respiratorias o por fomites contaminados. La mayor parte de las enfermedades relacionadas con adenovirus no son clínicamente patognómicas, y muchas infecciones son subclínicas.

Las infecciones con los tipos 1, 2, 5 y 6 se presentan sobre todo durante los primeros años de vida; los tipos 3 y 7 se contraen durante los años de escuela, y los otros tipos (p. ej., 4, 8 y 19) no se encuentran hasta la edad adulta.

Si bien, los adenovirus causan sólo de 2 a 5% de las enfermedades respiratorias en la población general, la enfermedad respiratoria debida a los tipos 3, 4 y 7 es común entre los reclutas militares. La enfermedad por adenovirus puede causar gran morbilidad entre los reclutas. Sin embargo, la enfermedad por adenovirus no es un problema en las tropas experimentadas.

En 1997, un brote de enfermedad respiratoria aguda causado por el tipo 11 infectó a adultos jóvenes que habita-

ban en una instalación para capacitación laboral (el primer brote identificado en civiles).

Las infecciones oculares pueden transmitirse de varias maneras, pero la transferencia de la mano al ojo es particularmente importante. Los brotes de conjuntivitis de la alberca son presumiblemente de origen hídrico, casi siempre aparecen en el verano, y en general se deben a los tipos 3 y 7. La queratoconjuntivitis epidémica es una enfermedad grave y muy contagiosa. Esta enfermedad, causada por el tipo 8, se propagó en 1941 desde Australia, a través de las islas hawaianas hasta la costa del Pacífico. Se propaga con rapidez en los astilleros (de ahí el nombre de "ojo de astillero") y atravesó toda EUA. La incidencia de anticuerpos neutralizantes al tipo 8 en la población general de EUA es muy baja (cerca de 1%), mientras en Japón es más de 30%. Recientemente, los tipos de adenovirus 19 y 37 causaron una epidemia de queratoconjuntivitis epidémica típica. Los brotes de conjuntivitis pudieron rastrearse hasta los consultorios de oftalmólogos, donde presuntamente fueron causados por contaminación de soluciones oftálmicas o del equipo de diagnóstico.

La incidencia de infección por adenovirus en pacientes sometidos a trasplante de médula ósea se estima en 5 a 30%. La incidencia informada es mayor en pacientes pediátricos que en adultos. Los pacientes pueden desarrollar una diseminación mortal de la infección. Los tipos 34 y 35 se encuentran con mayor frecuencia en los receptores de trasplantes de médula ósea y de riñón. La fuente más probable de infección en pacientes con trasplante es la reactivación de los virus endógenos, aunque las infecciones primarias pueden ser un factor en la población pediátrica.

Tratamiento

No hay tratamiento específico para las infecciones por adenovirus.

Prevención y control

El lavado cuidadoso de las manos es la forma más fácil de evitar las infecciones. Las superficies ambientales se pueden desinfectar con hipoclorito de sodio. En entornos de grupo, podría ser recomendable usar toallas de papel, porque las toallas sucias pueden ser una fuente de infección en los brotes. El riesgo de brotes de conjuntivitis transferida por agua se puede reducir mediante cloración de albercas y aguas negras. La asepsia estricta durante exámenes de ojo, junto con la esterilización adecuada del equipo, es esencial para el control de queratoconjuntivitis epidémica.

Los intentos para controlar las infecciones por adenovirus en el ejército se centraron en las vacunas. La vacuna de adenovirus vivo que contiene los tipos 4 y 7, encerrada en cápsulas recubiertas de gelatina y suministrada por vía oral, se introdujo en 1971. De esta forma, el virus evita el aparato respiratorio, donde podría causar enfermedad, y se libera en el intestino, donde se duplica e induce el anticuerpo neutralizante. No se disemina de una persona vacunada a contactos. La vacuna demostró ser muy efectiva, pero después de 1999 ya no estuvo disponible debido a que se discontinuó su fabricación.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

A continuación, la que se presenta en singular podría ser interpretado como plural (o viceversa) según lo dicte el sentido.

- ¿Qué proteína o proteínas de adenovirus regulan la transcripción inicial de los genes virales y modula el ciclo celular?
 - Fibra
 - Hexón
 - Pentón
 - Proteína terminal
 - Proteína de la región E1
 - Proteinasa de cisteína
 - Proteína de la región E3
- ¿Qué proteína de adenovirus sirve como cebador para la iniciación de la síntesis de DNA viral?
 - Fibra
 - Hexón
 - Pentón
 - Proteína terminal
 - Proteína de la región E1
 - Proteinasa de cisteína
 - Proteína de la región E3
- ¿Qué proteína de adenovirus comprende la mayor parte de capsómeros que constituyen la cápside del virus?
 - Fibra
 - Hexón
 - Pentón
 - Proteína terminal
 - Proteína de la región E1
 - Proteinasa de cisteína
 - Proteína de la región E3
- Un infante de tres meses de edad tuvo diarrea acuosa y fiebre durante 10 días. Se sospecha que los rotavirus o adenovirus tipos 40 y 41 son los agentes. ¿Qué tipo de muestra sería la más apropiada para la detección de infección por adenovirus tipos 40 y 41 en este paciente?
 - Sangre
 - Orina
 - Muestra conjuntival
 - Heces
 - Muestra tomada de la garganta
 - Líquido cefalorraquídeo
- ¿Cuál de las siguientes enfermedades humanas no ha sido relacionada con adenovirus?
 - Cáncer
 - Resfriados comunes
 - Enfermedades respiratorias comunes
 - Queratoconjuntivitis
 - Gastroenteritis
 - Cistitis hemorrágica
- Un niño de dos años y medio de edad que asiste a la estancia infantil adquiere una infección respiratoria leve. Otros niños de la estancia infantil tienen enfermedades similares. ¿Qué tipos de adenovirus son las causas más probables de la enfermedad?
 - Tipos 40, 41
 - Tipos 8, 19, 37
 - Tipos 1, 2, 5, 6
 - Tipos 3, 4, 7
 - Tipos 21, 22, 34, 35
- ¿Cuál de los tipos de adenovirus son causas frecuentes de enfermedad respiratoria aguda entre los reclutas militares?
 - Tipos 40, 41

- B. Tipos 8, 19, 37
 - C. Tipos 1, 2, 5, 6
 - D. Tipos 3, 4, 7
 - E. Tipos 21, 22, 34, 35
8. ¿Cuál de los siguientes sucesos dio lugar a la reaparición de brotes de enfermedad respiratoria aguda entre los reclutas militares de EUA a finales del decenio de 1990-99?:
- A. Surgimiento de una nueva cepa virulenta de adenovirus
 - B. Cese del programa de vacunación de adenovirus para los reclutas
 - C. Cambio de alojamiento militar y condiciones de capacitación para los reclutas
 - D. Cese del programa de tratamiento con fármacos antivirales contra adenovirus para los reclutas
9. Su proyecto de investigación de verano es estudiar los virus que causan gastroenteritis. Usted recupera un

virus de una muestra de heces y observa que el medio de desarrollo en los cultivos infectados es muy ácido. Encuentra que el genoma viral es DNA de doble cadena. De lo siguiente, ¿cuál es la conclusión más apropiada que podría sacar?:

- A. Hay una alta probabilidad de que el agente sea un rotavirus
- B. Es necesario determinar el serotipo viral para establecer si el virus fue una causa importante de la enfermedad
- C. El paciente debió haber sido tratado con el fármaco antiviral amantadina para acortar la duración de los síntomas
- D. La partícula de virus debe contener un enzima de transcriptasa inversa

Respuestas: 1 = E; 2 = D; 3 = B; 4 = D; 5 = A; 6 = C; 7 = D; 8 = B; 9 = B

REFERENCIAS

Kolavic-Gray SA *et al.*: Large epidemic of adenovirus type 4 infection among military trainees: Epidemiological, clinical and laboratory studies. *Clin Infect Dis* 2002;35:808.

Shenk TE: *Adenoviridae: the viruses and their replication*. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott-Williams & Wilkins, 2001.

Herpesvirus

La familia de herpesvirus contiene varios de los patógenos humanos más importantes. Clínicamente, los herpesvirus exhiben una variedad de enfermedades. Algunos tienen un amplio alcance de células huésped, mientras que otros tienen una diversidad reducida de células huésped. La propiedad sobresaliente de los herpesvirus es su capacidad para establecer infecciones persistentes de larga vida en sus huéspedes y experimentar reactivación periódica. Su reactivación frecuente en pacientes inmunosuprimidos causa graves complicaciones de salud. De forma curiosa, la infección reactivada podría ser bastante distinta clínicamente de la enfermedad causada por la infección primaria. Los herpesvirus poseen una gran cantidad de genes, algunos de los cuales han demostrado ser susceptibles a la quimioterapia antiviral.

Los herpesvirus que por lo común afectan a los humanos son virus de herpes simple tipos 1 y 2, virus de varicela zoster, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, herpesvirus humanos 6 y 7 y herpesvirus relacionados con sarcoma de Kaposi. Los virus herpes B de monos afectan también a los humanos. Hay casi 100 virus del grupo de herpes que infectan a muchas especies animales distintas.

PROPIEDADES DE LOS HERPESVIRUS

Las propiedades importantes de los herpesvirus se resumen en el cuadro 33-1.

Composición y estructura

Los herpesvirus son virus grandes. Los distintos miembros del grupo comparten detalles estructurales y son indistinguibles mediante microscopio electrónico. Todos los herpesvirus tienen un núcleo de DNA de doble cadena, en forma de toroide, rodeado por una cubierta proteínica que exhibe simetría icosaédrica y tiene 162 capsómeros. El nucleocápside está rodeado por una envoltura que se deriva de la membrana nuclear de la célula infectada y contiene picos de glucoproteína viral de unos 8 nm de largo. Una estructura amorfa, algunas veces asimétrica, entre la cápside y la envoltura se designa como el tegumento. La forma envuelta mide de 150 a 200 nm; el virión "puro", 100 nm.

El genoma de DNA de doble cadena (124 a 235 kpb) es lineal. Una característica sorprendente del DNA del her-

pesvirus es su disposición de secuencia (figura 33-1). Los genomas de herpesvirus poseen secuencias repetidas terminales e internas. Algunos miembros, como los virus de herpes simple, experimentan transposiciones genómicas que dan lugar a "isómeros" genómicos distintos. La composición base del DNA de herpesvirus varía de 31 a 75% (G + C). Hay poca homología de DNA entre diferentes herpesvirus excepto para herpes simple tipos 1 y 2, que muestran 50% de homología de secuencia, y los herpesvirus humanos 6 y 7, que presentan homología de secuencia limitada (30 a 50%). El tratamiento con endonucleasas de restricción produce patrones de segmentación con características distintas para herpesvirus e incluso para cepas diferentes de cada tipo. Esta "huella" de las cepas permite el seguimiento epidemiológico de una determinada cepa.

El genoma de herpesvirus es grande y codifica por lo menos 100 proteínas distintas. De éstas, más de 35 polipéptidos tienen relación con la estructura de la partícula de virus: algunos son parte de la envoltura viral. Los herpesvirus codifican una disposición de enzimas específicas para el virus que participan en el metabolismo de ácidos nucleicos, síntesis de DNA y regulación de proteínas (DNA polimerasa, cinasa de timidina, proteína cinasa).

Clasificación

La clasificación de los numerosos miembros de la familia de herpesvirus es complicada. Una división útil en subfa-

Cuadro 33-1. Propiedades importantes de los herpesvirus

Virión: esférico, 150 a 200 nm de diámetro (cápside icosaédrica)
Genoma: DNA de doble cadena, lineal, 124 a 235 kpb, secuencias reiterativas
Proteínas: más de 35 proteínas en el virión
Envoltura: contiene glucoproteínas virales, receptores Fc
Replicación: en el núcleo, gemación en la membrana nuclear
Características notables: establece infecciones latentes. Persiste de manera indefinida en huéspedes infectados. Reactivado frecuentemente en el huésped inmunodeficiente. Algunos son causa de cáncer

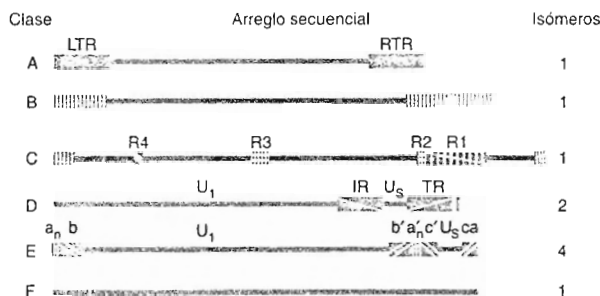


Figura 33-1. Diagrama esquemático de disposición de secuencias de DNA de herpesvirus. Los genomas de las clases A, B, C, D, E y F se ejemplifican mediante el virus de barbo de canal, herpesvirus saimiri, virus de Epstein-Barr, virus de la varicela zoster, virus de herpes simple y herpesvirus tupaia, respectivamente. Las líneas horizontales representan regiones únicas. Los dominios reiterados se muestran como rectángulos: repeticiones terminales izquierda y derecha (LTR y RTR) para clase A; repeticiones R1 a R4 para repeticiones internas de clase C; y repeticiones internas y terminales (IR y TR) de clase D. En la clase B, las secuencias terminales se repiten varias veces en ambos extremos. Los términos de clase E consisten en dos elementos. Las secuencias terminales (ab y ca) se insertan en una orientación invertida que separa las secuencias únicas en dominios largo (U₁) y corto (U₂). Los genomas de clase F carecen de terminaciones terminales. Los componentes de los genomas de las clases D y E se invierten. En la clase D (virus de la varicela zoster), el componente corto se invierte con respecto al largo, y el DNA forma dos poblaciones (isómeros) que difieren en la orientación del componente corto. En la clase E (virus de herpes simple) se pueden invertir tanto el componente corto como el largo, y el DNA viral consta de cuatro isómeros. (Reproducida, con autorización, de Roizman B: Herpesviridae: A brief introduction: pp. 1787 a 1793 en: *Virology*, 2a ed. Fields BN *et al.* [editores]. Raven Press, 1990.)

milita se basa en las propiedades biológicas de los agentes (cuadro 33-2). Los α herpesvirus son virus citolíticos de rápido crecimiento que tienden a establecer infecciones latentes en las neuronas; el virus de herpes simple (género *Simplexvirus*) y el virus de la varicela zoster (género *Varicellovirus*) son miembros. Los β herpesvirus son de crecimiento lento y podrían ser citomegálicos (agrandamientos masivos de células infectadas) y volverse latentes en glándulas secretorias y riñones; los citomegalovirus se clasifican en el género *Cytomegalovirus*. También incluidos aquí, en el género *Roseolovirus*, están los herpesvirus 6 y 7; por criterios biológicos, son más parecidos a los γ herpesvirus,

debido a que infectan a los linfocitos (T linfotrópico), pero los análisis moleculares de sus genomas revelan que tienen una relación más estrecha con los β herpesvirus. Los γ herpesvirus, ejemplificados con el virus de Epstein-Barr (género *Lymphocryptovirus*), infectan y se vuelven latentes en las células linfoides. El herpesvirus relacionado con el sarcoma de Kaposi, designado como herpesvirus humano 8, se clasifica en el género *Rhadinovirus*.

Muchos herpesvirus infectan a animales, el más notable es el virus B y los herpesvirus *saimiri*, *aotus* y *ateles* de monos; el herpesvirus *marmoset*; virus de la pseudorabia de cerdos, y el virus de la rinotraqueítis infecciosa bovina del ganado.

Cuadro 33-2. Clasificación de los herpesvirus humanos

Subfamilia ("herpesvirinae")	Propiedades biológicas		Género ("virus")	Ejemplos	
	Ciclo de crecimiento y citopatología	Infecciones latentes		Nombre oficial ("herpesvirus humano")	Nombre común
α	Breve, citolítica	Neuronas	<i>Simplex</i>	1	Virus herpes simple tipo 1
				2	Virus herpes simple tipo 2
			<i>Varicella</i>	3	Virus varicela zoster
β	Prolongado, citomegálica	Glándulas, riñones	<i>Cytomegalo</i>	5	Citomegalovirus
	Prolongado, linfoproliferativa	Tejido linfóide	<i>Roseolo</i>	6	Herpesvirus humano 6
				7	Herpesvirus humano 7
γ	Variable, linfoproliferativa	Tejido linfóide	<i>Lymphocrypto</i>	4	Virus de Epstein-Barr
			<i>Rhadio</i>	8	Herpesvirus relacionado con sarcoma de Kaposi

Hay poca relación antigénica entre los miembros del grupo de herpesvirus. Sólo los virus de herpes simple tipos 1 y 2 comparten un número importante de antígenos comunes. Los herpesvirus humanos 6 y 7 exhiben reacción cruzada en pocos epítomos.

Replicación del herpesvirus

El ciclo de replicación del virus de herpes simple se resume en la figura 33-2. El virus entra a la célula por fusión con la membrana celular después de unirse a receptores celulares

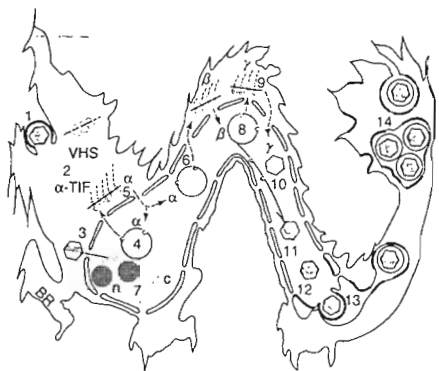


Figura 33-2. Ciclo de replicación del virus del herpes simple. 1: el virus funde la envoltura viral con la membrana plasmática después de unirse a la superficie celular. 2: la fusión de las membranas libera dos proteínas desde el virión: VHS desactiva la síntesis de proteínas; el factor de α -trans-inductor (α -TIF o VP16) es transportado al núcleo. 3: el DNA viral se libera desde la cápside en el poro nuclear hacia el núcleo y se propaga de inmediato. 4: α -TIF induce la transcripción de genes α mediante enzimas celulares. 5: las cinco moléculas de mRNA α son transportadas al citoplasma y traducidas (polirribosoma lleno); las proteínas son transportadas al núcleo. 6: la nueva ronda de transcripción da como resultado la síntesis de proteínas β . 7: se degrada la cromatina (c) y se desplaza hacia la membrana nuclear; los nucleólos (estructuras sombreadas redondas) se disgregan. 8: el DNA viral se replica mediante un mecanismo de círculo giratorio, que produce concatémeros de DNA viral. 9: la nueva ronda de transcripción-traducción produce proteínas γ , que consisten sobre todo en proteínas estructurales del virus. 10: las proteínas de la cápside forman cápsides vacías. 11: la unidad de longitud del DNA viral se separa de los concatémeros y se empaqueta en las cápsides preformadas. 12: las cápsides que contienen DNA viral adquieren una nueva proteína. 13: las glucoproteínas virales y las proteínas de tegumento se acumulan y forman parches en las membranas celulares. Las cápsides se unen a la parte inferior de los parches de membrana que contienen proteínas virales y están encerrados. 14: las partículas envueltas se acumulan en el retículo endoplásmico y son llevadas al espacio extracelular. (Reproducida, con autorización, de Roizman B, Sears AE: Herpes simplex virus and their replication. En: *Fields Virology*, 3a ed. Fields BN et al [editores]. Lippincott-Raven, 1996.)

específicos por medio de glucoproteínas de envoltura. Varios herpesvirus se unen a los glucosaminoglucanos de la superficie celular, sobre todo el sulfato de heparán. La adhesión de virus también está relacionada con la unión a uno de varios correceptores (p. ej., miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas). Después de la fusión, la cápside es transportada por el citoplasma a un poro nuclear; se presenta la pérdida de la cubierta y el DNA se integra al núcleo. El DNA viral forma de inmediato un círculo al liberarse de la cápside. La expresión del genoma viral está regulada de forma estricta y ordenada de manera secuencial en una frecuencia de cascada. VP16, una proteína del tegumento, forma complejos con varias proteínas celulares y activa la expresión génica viral inicial. Se expresan los genes inmediatos, produciendo proteínas α . Estas proteínas permiten la expresión del conjunto inicial de genes, que se traducen en proteínas β . Comienza la replicación de DNA viral, y se producen las transcripciones tardías que dan lugar a las proteínas γ . Se sintetizan más de 50 proteínas diferentes en las células infectadas con herpesvirus. Muchas proteínas α y β son enzimas de proteínas de enlace a DNA; la mayor parte de las proteínas y son componentes estructurales.

El DNA viral se transcribe por el ciclo de replicación mediante polimerasa II de RNA celular pero con participación de factores virales. El DNA viral se sintetiza mediante un mecanismo de círculo giratorio. Los herpesvirus difieren de otros virus de DNA nuclear en que codifican una gran cantidad de enzimas que participan en la síntesis de DNA. (Estas enzimas son buenos blancos para fármacos antivirales) El DNA viral recién sintetizado se empaqueta en nucleocápsides vacíos preformados en el núcleo de la célula.

La maduración ocurre por gemación de los nucleocápsides a través de la membrana nuclear interna modificada. Luego, el movimiento vesicular transporta las partículas de virus envueltas a la superficie de la célula.

La duración del ciclo de replicación varía desde unas 18 h para el virus de herpes simple a más de 70 h para el citomegalovirus. Las células infectadas con herpesvirus invariablemente mueren. La síntesis macromolecular del huésped se desactiva al inicio de la infección: la síntesis del DNA celular normal y proteínas prácticamente se detiene cuando comienza la replicación viral. Los efectos citopáticos que inducen los herpesvirus humanos son bastante distintos (figura 33-3).

Revisión de enfermedades por herpesvirus

La infección por herpesvirus se relaciona con una amplia variedad de enfermedades. La infección primaria y la enfermedad reactivada por un determinado virus pueden afectar diferentes tipos de células y presentar diferentes cuadros clínicos.

Los virus de herpes simple tipos 1 y 2 infectan las células epiteliales y establecen infecciones latentes en las neuronas. El tipo 1 se relaciona de manera clásica con lesiones bucofaringeas y causa ataques recurrentes de "vesículas febriles". El tipo 2 infecta sobre todo la mucosa genital y es la principal causa de herpes genital. Ambos virus también causan enfermedad neurológica. El virus de herpes sim-

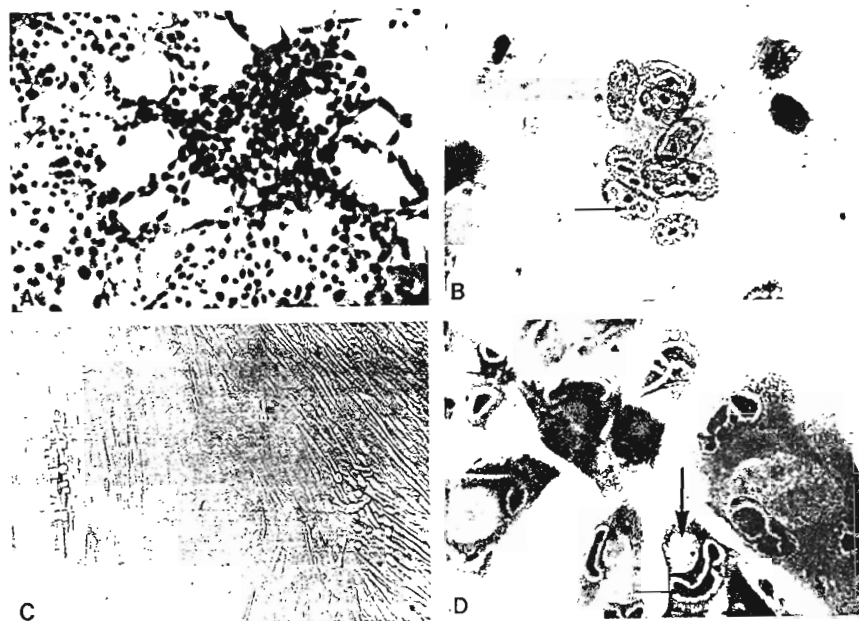


Figura 33-3. Efectos citopáticos inducidos por herpesvirus. **A:** virus de herpes simple en células HEp-2 (tinción de HyE, 57 x), con foco inicial de células redondeadas e hinchadas. **B:** virus de la varicela zoster en células de riñón humano (tinción de HyE, 228 x, con células gigantes multinucleadas que contienen inclusiones intranucleares acidofílicas (flecha). **C:** citomegalovirus en fibroblastos humanos (sin tinción, 35 x) con dos focos de efecto citopático de desarrollo lento. **D:** citomegalovirus en fibroblastos humanos (tinción de HyE, 228 x), que muestran células gigantes con inclusiones acidofílicas en los núcleos (flecha pequeña) y citoplasma (flecha grande), este último con las características de ser grande y redondo. (Cortesía de I Jack; reproducida, con autorización, de White DO, Fenner FJ: *Medical Virology*, 3a ed. Academic Press, 1986.)

ple tipo 1 es la causa principal de encefalitis esporádica en EUA. Tanto el tipo 1 como el 2 causan infecciones neonatales que suelen ser graves.

El virus de la varicela zoster causa varicela en la infección primaria y establece infección latente en las neuronas. En la reactivación, el virus causa herpes zoster. Los adultos infectados por primera vez con el virus de la varicela zoster son susceptibles de desarrollar neumonía viral grave.

El citomegalovirus se replica en células epiteliales del tracto respiratorio, glándulas salivales y riñones, y persiste en los linfocitos. Causa mononucleosis infecciosa (negativa a heterófilo). En recién nacidos, podría presentarse enfermedad por inclusión citomegálica. El citomegalovirus es una causa importante de defectos congénitos y retraso mental.

El herpesvirus humano 6 infecta a los linfocitos T. Por lo común se adquiere en la infancia primaria y causa exantema súbito (roséola infantil). El herpesvirus humano 7, también un virus linfotrópico T, aún no ha sido relacionado con alguna enfermedad específica.

El virus Epstein-Barr se replica en las células epiteliales de la bucofaringe y la glándula parótida y establece in-

fecciones latentes en los linfocitos. Causa mononucleosis infecciosa y es la causa de trastornos linfoproliferativos humanos, en particular en pacientes inmunodeficientes. Al parecer el herpesvirus humano 8 está relacionado con el desarrollo de sarcoma de Kaposi, un tumor vascular que es común en pacientes con SIDA.

El herpesvirus B de los monos macacos puede infectar a los humanos. Estas infecciones son raras, pero las que se presentan, por lo común, producen enfermedad neurológica grave y suelen ser fatales.

Los herpesvirus humanos con frecuencia son reactivados en pacientes inmunodeficientes (p. ej., receptores de trasplante, pacientes con cáncer) y podrían causar enfermedad grave, como neumonía o linfomas.

Los herpesvirus han sido relacionados con enfermedades malignas en humanos y animales inferiores: el virus Epstein-Barr con el linfoma de Burkitt en niños africanos, con carcinoma nasofaríngeo y con otros linfomas; el herpesvirus relacionado con el sarcoma de Kaposi con dicha enfermedad; el virus de la enfermedad de Marek con un linfoma de los pollos; y varios herpesvirus de primates con sarcomas del retículo celular y linfomas en monos.

INFECCIONES POR HERPESVIRUS EN HUMANOS

VIRUS DE HERPES SIMPLE

Los virus de herpes simple se han propagado mucho en la población humana. Muestran un amplio alcance de huéspedes, y son capaces de replicarse en muchos tipos de células e infectar a muchos animales distintos. Crecen con rapidez y son muy citolíticos. A los virus de herpes simple se les puede atribuir un espectro de enfermedades, que va desde gingivostomatitis a queratoconjuntivitis, encefalitis, enfermedad genital, e infecciones en los recién nacidos. Los virus de herpes simple establecen infecciones latentes en células nerviosas; las recurrencias son comunes.

Propiedades de los virus

Hay dos virus de herpes simple distintos: tipo 1 y tipo 2 (VHS-1, VHS-2) (cuadro 33-3). Sus genomas son similares en organización y exhiben homología de secuencia sustancial. Sin embargo, se pueden diferenciar mediante análisis de enzimas de restricción de DNA viral. Los dos virus tienen reacción serológica cruzada, pero existen algunas proteínas únicas para cada tipo. Difieren en su modo de transmisión; VHS-1 se disemina por contacto, por lo común en saliva infectada, mientras que VHS-2 se transmite por vía sexual o de una infección genital materna a un recién nacido. Esto da como resultado características clínicas distintas de infecciones humanas.

El ciclo de desarrollo de VHS procede con rapidez, y requiere de 8 a 16 h para completarse. El genoma de VHS es grande (cerca de 150 kpb) y puede codificar por lo menos 70 polipéptidos; no se conocen las funciones de muchas de las proteínas en la replicación o latencia. Por lo menos ocho glucoproteínas virales están entre los produc-

Cuadro 33-3. Comparación de los virus herpes simple tipo 1 y tipo 2*

Características	VHS-1	VHS-2
Bioquímicas		
Composición de bases (G + C) del DNA viral	67%	69%
Densidad de flotación del DNA (g/cm ³)	1.726	1.728
Densidad de flotación de los viriones (g/cm ³)	1.271	1.267
Homología entre los DNA virales	~50%	~50%
Biológicas		
Vectores animales o reservorios	Ninguno	Ninguno
Sitio de latencia	Ganglio del trigémino	Ganglio sacro
Epidemiológicas		
Edad en que acontece la infección primaria	Niños pequeños	Adultos jóvenes
Transmisión	Contacto (con frecuencia saliva)	Sexual
Clínicas		
Infección primaria:		
Gingivostomatitis	+	-
Faringoamigdalitis	+	-
Queratoconjuntivitis	+	-
Infecciones neonatales	±	+
Infecciones recidivantes:		
Úlceras, vesículas febriles	+	-
Queratitis	+	-
Infección primaria o recidivante:		
Herpes cutáneo		
En la piel por arriba de la cintura	+	±
En la piel por debajo de la cintura	±	+
Manos o brazos	+	+
Panadizo herpético	+	+
Eccema herpético	+	-
Herpes genital	±	+
Encefalitis herpética	+	-
Meningitis herpética	±	+

* Modificado de Oxman MN: Herpes stomatitis. Pages 752-772 in: *Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2nd ed. Braude AI, Davis CE, Fierer J (editors). Saunders, 1986.

tos génicos virales finales. Uno (gD) es el inductor más potente de anticuerpos de neutralización. La glucoproteína C es una proteína de enlace a complemento (C3b), y gE es un receptor de Fc, que se une a la porción Fc de IgG. La glucoproteína G es específica del tipo y permite la discriminación antigénica entre VHS-1 (gG-1) y VHS-2 (gG-2).

Patogénesis y patología

A. Patología

Debido a que VHS causa infecciones citolíticas, los cambios patológicos se deben a necrosis de células infectadas junto con la respuesta inflamatoria. Las lesiones inducidas en la piel y las membranas mucosas por VHS-1 y VHS-2 son las mismas y se asemejan a las del virus de la varicela zoster. Los cambios inducidos por VHS son similares para las infecciones primaria y recurrente pero varían en grado, lo que refleja el alcance de la citopatología viral.

Los cambios histopatológicos característicos son hinchazón de células infectadas, producción de cuerpos de inclusión intranuclear tipo A de Cowdry, marginación de cromatina y formación de células gigantes multinucleadas. Las inclusiones iniciales casi llenan el núcleo, pero después se condensan y se separan mediante un halo desde la cromatina en el borde nuclear. La fusión celular da un método eficaz de difusión de VHS de célula a célula, incluso en presencia de anticuerpo de neutralización.

B. Infección primaria

El VHS se transmite por contacto de una persona susceptible con un individuo que excrete. El virus debe encontrar superficies mucosas o heridas en la piel para iniciar una infección (la piel sin fisuras es resistente). Las infecciones por VHS-1 por lo común están limitadas a la bucofaringe, y el virus se disemina mediante gotitas respiratorias o por contacto directo con saliva infectada. El VHS-2 generalmente se transmite mediante rutas genitales. La replicación viral se presenta primero en el sitio de infección. Luego, el virus invade terminales nerviosas locales y el flujo axonal retrógrado lo transporta a los ganglios de la raíz dorsal, donde, después de la replicación, se establece la latencia. Las infecciones bucofaringeas por VHS-1 dan como resultado lesiones latentes en el ganglio trigémino, en tanto que las infecciones genitales por VHS-2 producen infección latente en los ganglios sacros.

Por lo común, las infecciones primarias por VHS son leves; de hecho, la mayor parte son asintomáticas. Sólo rara vez se desarrolla enfermedad sistémica. La afectación extensa de órganos resulta cuando un huésped inmunodeficiente no puede limitar la replicación del virus y sobreviene viremia.

C. Infección latente

El virus reside de manera latente en los ganglios con infección en un estado no replicativo; sólo se expresan muy pocos genes virales. La persistencia viral en ganglios con infección latente dura toda la vida del huésped. Ningún virus se recupera entre recurrencias o cerca del sitio usual de lesiones recurrentes. Los estímulos inductores pueden reactivar el virus del estado latente, entre otros, lesión axonal, fiebre, estrés físico o emocional y exposición a luz ultravioleta. El virus sigue a los axones de regreso al sitio peri-

férico, y la replicación procede en la piel o las membranas mucosas. Las reactivaciones espontáneas se presentan a pesar de la inmunidad humoral y celular específica para VHS en el huésped. Sin embargo, esta inmunidad limita la replicación viral local, así que las infecciones recurrentes son menos extensas y menos graves. Muchas recurrencias son asintomáticas, reflejadas sólo por la presencia viral en las secreciones. Cuando son sintomáticas, los episodios de infección recurrente por VHS-1 se manifiestan normalmente como "fogazos" (vesículas febriles) cerca del labio. Más de 80% de la población humana alberga VHS-1 en una forma latente, pero sólo una porción pequeña experimenta recurrencias. Se desconoce por qué algunos individuos sufren reactivaciones y otros no.

Datos clínicos

Los virus de herpes simple tipos 1 y 2 pueden causar muchos cuadros clínicos, y las infecciones podrían ser primarias o recurrentes (cuadro 33-3). Las infecciones primarias se presentan en personas sin anticuerpos y en la mayoría de los individuos son poco evidentes desde el punto de vista clínico, pero dan como resultado producción de anticuerpos e infecciones latentes en los ganglios sensoriales. Son comunes las lesiones recurrentes.

A. Enfermedad bucofaringea

Las infecciones primarias por VHS-1 casi siempre son asintomáticas. La enfermedad sintomática se presenta con más frecuencia en niños pequeños (1 a 5 años de edad) y se manifiesta en la mucosa bucal y gingival de la boca (figura 33-4). El periodo de incubación es corto (cerca de 3 a 5 días, con un alcance de 2 a 12 días), y la enfermedad clínica dura de 2 a 3 semanas. Los síntomas son fiebre, ardor de garganta, lesiones vesiculares y ulcerativas, edema, gingivostomatitis, linfadenopatía submandibular, anorexia y malestar general. La gingivitis (encías hipersensibles e inflamadas) es la lesión más notable y más común. Las infecciones primarias en adul-



Figura 33-4. Gingivostomatitis por herpes simple. (Reproducida, con autorización, de Whitley RJ: Herpes simplex viruses. En: *Fields Virology*, 3a ed. Fields BN et al [editores]. Lippincott-Raven, 1996.)

tos por lo que se pre-

La en de vesícula Al comien días. La L ción de co 10 días. L varios inte recurrencia

B. Quera

Es posible ojo, que pr recurrentes tis dendriti párpados. C ción progr manente y superadas p neal en EU.

C. Herpes

Por lo gene el VHS-1 ta pes genital. pueden ser g manas. El ha loulcerativas perineo de la drían estar rie y linfader lesiones extr aséptica (s > durante tres

Debido a l y VHS-2, l

Reproducida de Whitley RJ: Herpes simplex viruses. En: Fields Virology, 3a ed. Fields BN et al [editores]. Lippincott-Raven, 1996.

Figura 33-5. H da, con autoriz ses. En: *Fields Virology*, 3a ed. Fields BN et al [editores]. Lippincott-Raven, 1996.

tos por lo común causan faringitis y amigdalitis. Es posible que se presente linfadenopatía localizada.

La enfermedad recurrente se caracteriza por racimos de vesículas localizadas en el borde del labio (figura 33-5). Al comienzo hay dolor intenso, pero desaparece a los 4 o 5 días. Las lesiones pasan por la etapa pustulosa y de formación de costra, y sanan por completo sin cicatriz a los 8 o 10 días. Las lesiones podrían recurrir, de forma repetida y a varios intervalos, en el mismo lugar. La frecuencia de las recurrencias varía mucho entre individuos.

B. Queratoconjuntivitis

Es posible que se presenten infecciones por VHS-1 en el ojo, que producen queratoconjuntivitis grave. Las lesiones recurrentes del ojo son comunes y aparecen como queratitis dendrítica o úlceras corneales, o como vesículas en los párpados. Con la queratitis recurrente, podría haber afectación progresiva del estroma corneal, con opacificación permanente y ceguera. Las infecciones por VHS-1 sólo son superadas por el traumatismo como causa de ceguera corneal en EUA.

C. Herpes genital

Por lo general el VHS-2 causa enfermedad genital, aunque el VHS-1 también puede causar episodios clínicos de herpes genital. Las infecciones primarias de herpes genital pueden ser graves, con enfermedad que dura unas tres semanas. El herpes genital se caracteriza por lesiones vesiculolúculares del pene o del cuello uterino, vulva, vagina y perineo de la mujer. Las lesiones son muy dolorosas y podrían estar relacionadas con fiebre, malestar general, disuria y linfadenopatía inguinal. Las complicaciones incluyen lesiones extragenitales ($\approx 20\%$ de los casos) y meningitis aséptica ($\approx 10\%$ de los casos). La excreción viral persiste durante tres semanas.

Debido a la reactividad antigénica cruzada entre VHS-1 y VHS-2, la inmunidad preexistente proporciona cierta

protección contra la infección heterotípica. Una infección inicial por VHS-2 en una persona ya inmune a VHS-1 tiende a ser menos grave.

Las recurrencias de infecciones herpéticas genitales son comunes y tienden a ser leves. Aparece una cantidad limitada de vesículas y sanan en alrededor de 10 días. El virus se disemina sólo durante unos días. Algunas recurrencias son asintomáticas. Dependiendo de que la recurrencia sea sintomática o asintomática, una persona que excreta virus puede transmitir la infección a sus compañeros sexuales.

D. Infecciones cutáneas

La piel íntegra es resistente a VHS, así que las infecciones cutáneas por HVS son poco comunes en personas saludables. Las lesiones localizadas causadas por VHS-1 o VHS-2 pueden presentarse en abrasiones que se contaminan con el virus (herpes traumático). Estas lesiones se observan en los dedos de dentistas y en personal de hospitales (panadizo herpético) y en los cuerpos de luchadores (herpes del gladiador).

Las infecciones cutáneas suelen ser graves y amenazan la vida cuando se presentan en individuos con trastornos de la piel, como eccema, o quemaduras, que permiten la replicación viral local extensa o la diseminación. El eccema herpeticum es una infección primaria, por lo común con VHS-1, en una persona con eccema crónico. En casos poco frecuentes, la enfermedad podría ser fatal.

E. Encefalitis

El herpesvirus podría producir una variante grave de encefalitis. Las infecciones por VHS-1 son consideradas como la causa más común de encefalitis esporádica fatal en EUA. La enfermedad presenta una tasa alta de mortalidad, y quienes sobreviven suelen tener defectos neurológicos residuales. Cerca de la mitad de los pacientes con encefalitis por VHS al parecer tiene infecciones primarias, y el resto parece tener infección recurrente.

F. Herpes neonatal

La infección por VHS del recién nacido podría ser adquirida en el útero, durante el nacimiento o después de éste. La madre es la fuente de infección más común en todos los casos. Se estima que el herpes neonatal se presenta en casi 1 de 5 000 partos al año. El infante recién nacido al parecer es incapaz de limitar la replicación y diseminación de VHS y es propenso a desarrollar enfermedad grave.

La vía de infección más común ($\approx 75\%$ de los casos) es por VHS que se transmite al recién nacido por contacto con lesiones herpéticas en el conducto del parto. Para evitar la infección, se utiliza el parto por cesárea en mujeres embarazadas con lesiones de herpes genital. Sin embargo, se presentan muchos menos casos de infección neonatal por VHS que casos de herpes genital recurrente, incluso cuando el virus está presente a término.

El herpes neonatal se puede adquirir después de nacer por exposición a VHS-1 o VHS-2. Las fuentes de infección son los miembros de la familia y el personal del hospital quienes propagan el virus. El VHS-2 causa cerca de 75% de las infecciones de herpes neonatal. Al parecer no hay diferencias entre la naturaleza y la gravedad del herpes neonatal en infantes prematuros o a término, en infecciones



Figura 33-5. Herpes simple labialis recurrente. (Reproducida, con autorización, de Whitley RJ: Herpes simplex virus. En: *Fields Virology*, 3a ed. Fields BN et al [editores]. Lippincott-Raven, 1996.)

causadas por VHS-1 o VHS-2, o en enfermedad cuando el virus se adquiere durante o después del parto.

Las infecciones por herpes neonatal casi siempre son sintomáticas. El índice de mortalidad global de la enfermedad sin tratamiento es 50%. Los recién nacidos con herpes neonatal exhiben tres categorías de enfermedad: 1) lesiones localizadas en piel, ojos y boca; 2) encefalitis con o sin afectación localizada de la piel, y 3) enfermedad diseminada que afecta a varios órganos, entre otros el sistema nervioso central. El peor pronóstico (tasa de mortalidad de alrededor de 80%) se aplica a infantes con infección diseminada, muchos de los cuales desarrollan encefalitis. La causa de muerte de neonatos con enfermedad diseminada por lo general neumonitis viral o coagulopatía intravascular. Muchos sobrevivientes de infecciones graves quedan con daño neurológico permanente.

G. Infecciones en huéspedes inmunodeficientes

Los pacientes inmunodeficientes tienen mayor riesgo de desarrollar infecciones graves por VHS. Estos son pacientes inmunodeficientes por enfermedad o tratamiento (en particular aquellos con inmunidad celular deficiente) e individuos con desnutrición. Los receptores de trasplante renal, cardíaco y de médula ósea están en riesgo particular de infecciones graves por herpes. Los pacientes con malignidades hematológicas y pacientes con SIDA experimentan infecciones más frecuentes por VHS y graves. Las lesiones por herpes se podrían diseminar y afectar las vías respiratorias, esófago y mucosa intestinal. Los niños desnutridos son propensos a infecciones por VHS diseminadas y fatales. En la mayor parte de los casos, la enfermedad refleja reactivación de la infección latente por VHS.

Inmunidad

Muchos recién nacidos adquieren anticuerpos maternos transferidos de forma pasiva. Estos anticuerpos se pierden durante los primeros seis meses de vida, y el periodo de mayor susceptibilidad para infección primaria por herpes se presenta entre edades de seis meses y dos años. Los anticuerpos adquiridos de forma transplacentaria de la madre no protegen por completo contra la infección al recién nacido, sino que al parecer mejoran la infección o incluso la evitan. Los anticuerpos de VHS-1 comienzan a aparecer en la población en la primera infancia; en la adolescencia, están presentes en la mayoría de las personas. Los anticuerpos para VHS-2 surgen durante la edad de la adolescencia y la actividad sexual.

Durante las infecciones primarias, los anticuerpos IgM aparecen de forma transitoria y van seguidos de anticuerpos IgG e IgA que persisten durante largos periodos. Mientras más grave sea la infección primaria o más frecuentes sean las recurrencias, mayor es la intensidad de respuesta del anticuerpo. Sin embargo, el patrón de respuesta del anticuerpo no se ha correlacionado con la frecuencia de recurrencia de la enfermedad. La inmunidad mediada por células y los factores inespecíficos del huésped (células asesinas naturales, interferón) son importantes en el control de infecciones primarias y recurrentes por VHS.

Después de la recuperación de una infección primaria (poco evidente, leve o grave), el virus es llevado en un estado latente en presencia de anticuerpos. Estos anticuerpos no evitan la reinfección o la reactivación del virus latente, sino que podrían modificar la enfermedad subsecuente.

Diagnóstico de laboratorio

A. Citopatología

Un método citológico rápido es teñir las raspaduras obtenidas de la base de una vesícula (p. ej., con tinción de Giemsa). La presencia de células gigantes multinucleadas indica que está presente el herpesvirus (VHS-1, VHS-2 o varicela zoster), lo que distingue a las lesiones de las causadas por virus Coxsackie y entidades no virales.

B. Aislamiento e identificación del virus

El aislamiento del virus aún es el método de diagnóstico definitivo. Los virus se pueden aislar de lesiones herpéticas y también se pueden encontrar en lavados de garganta, líquido cefalorraquídeo y heces, tanto durante la infección primaria como durante periodos asintomáticos. Por tanto, el aislamiento de VHS no es en sí evidencia suficiente para indicar que el virus es el agente causante de una enfermedad en investigación.

La inoculación de cultivos de tejido se usa para aislamiento viral. El agente se identifica entonces por prueba Ni o tinción de inmunofluorescencia con antisero específico. La tipificación de aislados de VHS se podría hacer por medio de anticuerpos monoclonales o por análisis de endonucleasas de restricción de DNA viral pero sólo es útil para estudios epidemiológicos.

C. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Los estudios de PCR se pueden usar para detectar virus y son sensibles y específicos. La amplificación de la PCR de DNA viral de líquido cefalorraquídeo ha remplazado al aislamiento viral del tejido cerebral obtenido mediante biopsia o en el examen *post mortem* como el estudio estándar para diagnóstico específico de infecciones por VHS del sistema nervioso central.

D. Serología

Los anticuerpos aparecen en los días 4 a 7 después de la infección y alcanzan un máximo en 2 a 4 semanas. Persisten con fluctuaciones menores durante la vida del huésped.

El valor diagnóstico de los estudios serológicos está limitado por antígenos múltiples compartidos por VHS-1 y VHS-2. También podría haber algunas respuestas anamnésticas heterotópicas al virus de varicela zoster en personas infectadas con VHS, y viceversa. El uso de anticuerpos de VHS específicos para el tipo, disponibles en algunos laboratorios de investigación, permiten pruebas más significativas.

Epidemiología

Los virus de herpes simple están distribuidos a nivel mundial. No hay reservorios animales o vectores que tengan

que ver con los virus humanos. La transmisión es por contacto con secreciones infectadas. La epidemiología de los virus de herpes simple tipos 1 y 2 es diferente.

Es probable que la presencia de VHS-1 en los humanos sea más constante que la de cualquier otro virus. La infección primaria se presenta al inicio de la vida y por lo común es asintomática; en ocasiones, produce enfermedad bucofaringea (gingivostomatitis en niños, faringitis en adultos jóvenes). Se desarrollan anticuerpos, pero el virus no se elimina del cuerpo; se establece un estado portador que dura toda la vida y lo remarcen los ataques recurrentes transitorios de herpes.

La mayor incidencia de infección por VHS-1 se presenta entre niños de seis meses a tres años de edad. En la edad adulta, 70 a 90% de las personas tienen anticuerpos tipo 1. Hay una tasa alta de variación geográfica en seroprevalencia. Los individuos de la clase media en países desarrollados adquieren anticuerpos a edad más avanzada que los de poblaciones con menor nivel socioeconómico. Es de suponer que esto refleja condiciones de vida más aglomeradas e higiene deficiente entre los últimos. El virus se disemina por contacto directo con saliva infectada o por medio de utensilios contaminados con la saliva de un portador del virus. La fuente de infección para los niños por lo común es un adulto con lesión herpética asintomática o que excreta el virus en la saliva pero que es asintomático.

La frecuencia de las infecciones recurrentes por VHS-1 varía ampliamente entre los individuos. En algún momento determinado, 1 a 5% de los adultos normales estará excretando el virus, a menudo en ausencia de síntomas clínicos.

En general el VHS-2 se adquiere como una enfermedad transmitida sexualmente, así que los anticuerpos para este virus pocas veces se encuentran antes de la pubertad. Se estima que en EUA hay cerca de 40 a 60 millones de individuos infectados. Los estudios de prevalencia de anticuerpos se complican por la reactividad cruzada entre los tipos 1 y 2 de VHS. Estudios con antígenos glucoproteínicos tipo específico recientemente determinaron que 20% de los adultos de EUA poseen anticuerpos de VHS-2, con una seroprevalencia más alta entre mujeres que hombres y mayor en negros que en blancos.

Las infecciones genitales recurrentes podrían ser asintomáticas o asintomáticas. Cualquier situación provee un reservorio de virus para transmisión a personas susceptibles. El VHS-2 tiende a recurrir con más frecuencia que el VHS-1, independientemente del sitio de la infección.

Las infecciones genitales maternas por VHS presentan riesgos para la madre y el feto. Rara vez la mujer embarazada podría desarrollar enfermedad diseminada después de la infección primaria, con una tasa alta de mortalidad. La infección primaria antes de 20 semanas de gestación ha sido relacionada con aborto espontáneo. El feto puede contraer la infección como resultado de la diseminación viral desde lesiones recurrentes en el conducto del parto al momento del mismo. Las estimaciones de la frecuencia de diseminación cervical del virus entre las mujeres varían mucho.

Las infecciones genitales por VHS incrementan el contagio de infecciones por virus de inmunodeficiencia humana (VIH) tipo 1 debido a que las lesiones ulcerativas se abren en la superficie de las mucosas.

Tratamiento, prevención y control

Varios fármacos antivirales han demostrado efectividad contra infecciones por VHS, entre ellos aciclovir, valaciclovir y vidarabina (capítulo 30). En la actualidad el aciclovir es la terapia estándar. Todos son inhibidores de la síntesis de DNA viral. La cinasa de timidina de VHS monofosforila al aciclovir, un nucleósido análogo, y luego las cinasas celulares lo convierten a la forma de trifosfato. La polimerasa de VHS incorpora de manera eficaz al trifosfato de aciclovir en el DNA viral, donde evita después la elongación de la cadena. Los fármacos podrían suprimir las manifestaciones clínicas, acortar el tiempo de recuperación y reducir las recurrencias de herpes genital. Sin embargo, el VHS permanece latente en los ganglios sensoriales. Podrían surgir cepas de virus resistentes a fármacos.

Los recién nacidos y personas con eccema deben estar protegidos de exposición a personas con lesiones herpéticas activas.

Están siendo elaboradas vacunas experimentales de varios tipos. Un método es usar antígenos de glucoproteína purificada encontrados en la envoltura viral, expresados en algún sistema recombinante. Esta clase de vacunas podría ser útil para la prevención de infecciones primarias. Una vacuna de glucoproteína de VHS-2 recombinante probada en un estudio multicéntrico reciente evitó infecciones de herpes genital en mujeres que fueron seronegativas para VHS-1 y VHS-2; no resultó efectiva en mujeres que fueron seropositivas para VHS-1, o en varones.

VIRUS DE VARICELA ZOSTER

La varicela es una enfermedad leve muy contagiosa, principalmente de niños, caracterizada desde el punto de vista clínico por una erupción vesicular generalizada de la piel y membranas mucosas. La enfermedad podría ser grave en adultos y en niños inmunocomprometidos.

El zoster es una enfermedad esporádica incapacitante de los adultos o individuos inmunocomprometidos, que se caracteriza por exantema limitado en distribución respecto de la piel inervada por un solo ganglio sensitivo. Las lesiones son similares a las de la varicela.

El mismo virus causa ambas enfermedades. La varicela es la enfermedad aguda que sigue al contacto primario con el virus, en tanto que el zoster es la respuesta del huésped parcialmente inmune a la reactivación del virus de la varicela presente en forma latente en neuronas de ganglios sensoriales.

Propiedades del virus

El virus de la varicela zoster es idéntico morfológicamente al virus de herpes simple. No tiene reservorio animal. El virus se propaga en cultivos de tejido embrionario humano y produce cuerpos de inclusión intranuclear característicos (figura 33-3B). Los cambios citopáticos son más focales y se diseminan de forma mucho más lenta que los inducidos por VHS. Los virus infecciosos mantienen una relación muy

estrecha con las células, y la propagación serial se lleva a cabo con más facilidad por el paso de células infectadas que de líquidos de cultivo de tejido.

El mismo virus causa varicela y zoster. Los aislados virales de las vesículas de pacientes con varicela o zoster no muestran variación genética importante. La inoculación de líquido de vesícula zoster en los niños produce varicela. Los niños que se han recuperado de la infección inducida por el virus de zoster son resistentes a la varicela.

Patogenia y patología

A. Varicela

La ruta de infección es la mucosa del tracto respiratorio superior o la conjuntiva (figura 33-6). Después de la replicación inicial en los ganglios linfáticos regionales, la viremia primaria disemina al virus y da lugar a la replicación en el hígado y en el bazo. La viremia secundaria en la que intervienen células mononucleares infectadas transporta los virus a la piel, donde se presenta exantema característico. El edema de células epiteliales, la degeneración de por inflamación y la acumulación de líquido tisular dan como resultado la formación de vesículas (figura 33-7).

Las respuestas inmunes humorales y celulares del huésped limitan la replicación y diseminación del virus de la varicela zoster. Es posible que también este relacionado el interferón.

B. Zoster

Las lesiones cutáneas de zoster son idénticas desde el punto de vista histopatológico a las de la varicela. Hay una inflamación aguda de los nervios y ganglios sensoriales. Es común que sólo esté involucrado un solo ganglio. Como regla, la distribución de las lesiones en la piel corresponde de manera estrecha a las áreas de inervación desde un solo ganglio de la raíz dorsal.

No está claro qué dispara la reactivación de infecciones latentes por virus de varicela zoster en los ganglios. Se cree que la inmunidad cada vez menor permite que se presente la replicación viral en un ganglio, que causa inflamación y dolor intensos. El virus recorre el nervio hasta la piel e induce la formación de vesículas. La inmunidad mediada por células quizá es la defensa más importante del huésped para contener al virus de la varicela zoster. Las reactivaciones son esporádicas y recurren rara vez.

Datos clínicos

A. Varicela

La varicela subclínica es poco usual. El periodo de incubación de la enfermedad ordinaria es de 10 a 21 días. El malestar general y la fiebre son los primeros síntomas, seguidos pronto por exantema, primero en el tronco y luego en la cara, las extremidades y la mucosa bucal y faríngea en la boca. Las vesículas nuevas sucesivas aparecen en grupos, así que se podrían observar a la vez las etapas de máculas, pápulas, vesículas y costras (figura 33-8). El exantema dura unos cinco días, y la mayoría de los niños presenta varios cientos de lesiones cutáneas.

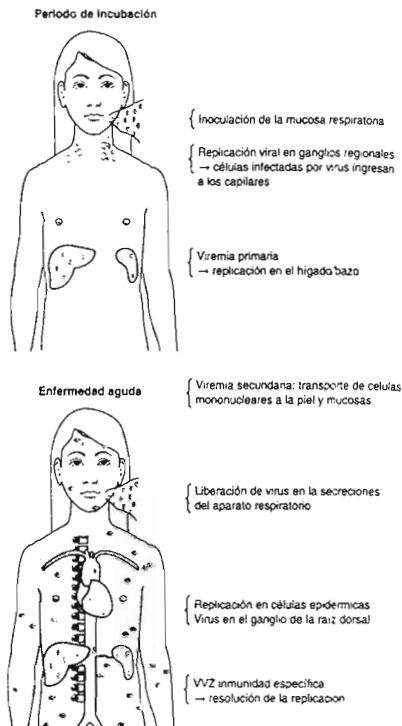


Figura 33-6. Patogénesis de infección primaria con virus de la varicela zoster. El periodo de incubación con viremia primaria dura de 10 a 21 días. Una fase vírémica secundaria da como resultado transporte de virus a la piel y sitios de las mucosas respiratorias. La replicación de células epidérmicas causa el exantema característico de la varicela. La inducción de inmunidad específica por el virus de la varicela zoster se requiere para terminar la replicación viral. El virus tiene acceso a células de los ganglios trigémino y de la raíz dorsal durante la infección primaria y establece la latencia. (Reproducida, con autorización, de Arvin AM: *Varicella-zoster virus*. En: *Fields Virology*, 3a ed. Fields BN et al [editores]. Lippincott-Raven, 1996).

Las complicaciones son raras en niños sanos y la tasa de mortalidad es muy baja. La encefalitis se presenta en casos raros y puede poner la vida en peligro. Los sobrevivientes de encefalitis por varicela podrían quedar con secuelas permanentes. En la varicela neonatal, la infección se contrae de la madre justo antes o después del nacimiento, pero sin respuesta inmune suficiente para modificar la enfermedad. Es común que el virus se disemine ampliamente y podría resultar fatal. Se han descrito casos de síndrome de varicela congénita después de los casos maternos de varicela durante el embarazo.

La neumonía por varicela es rara en niños sanos, pero es la complicación más común en neonatos, adultos y pa-

Figura 33-7. Infección por varicela zoster. Se observaron cambios en la piel que se fijaron y se observaron en la que se fijaron con núcleos de 480 x intranucleares amplios (da en el bazo x). D: virus muestra dermítico (de 40 x). c: célula-zoster (res). Rave

cientes in-
tes relac-

Los
riesgo de
con mal-
VIH y los
te la posi-
que produ-
en particu-
minada g-

B. Zoster
El zoster
prometida
jecimiento
saludable
área de la
nervios y
cio apare-

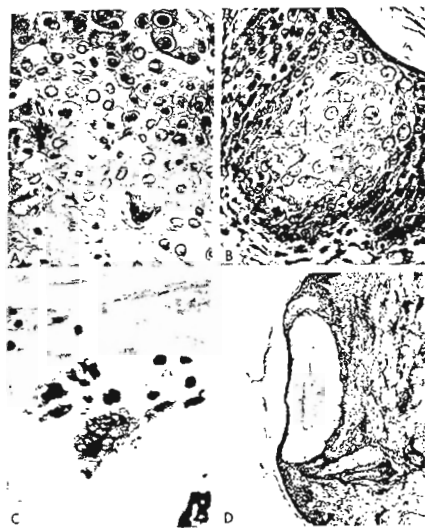


Figura 33-7. Cambios histológicos característicos de la infección por virus de la varicela zoster. Las biopsias con sacabocados de vesículas de virus de la varicela zoster se fijaron y tiñeron con hematoxilina-eosina. **A:** infección inicial en la que se observa "degeneración de balón" de células con núcleos basofílicos y cromatina marginada (reducida de 480 x). **B:** infección posterior que muestra inclusiones intranucleares eosinofílicas rodeadas por áreas claras y amplias (reducida de 480 x). **C:** célula gigante multinucleada en el techo de una vesícula de varicela (reducida de 480 x). **D:** vista de baja potencia de una vesícula temprana que muestra separación de la epidermis (acantolisis), edema dérmico e infiltración de células mononucleares (reducida de 40 x). (Reproducida, con autorización, de Gelb LD: Varicella-zoster virus. En: *Virology*, 2a ed. Fields BN *et al* [editores]. Raven Press, 1990.)

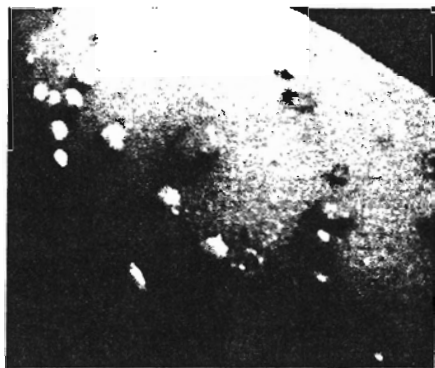


Figura 33-8. Etapas múltiples o "brotes" de lesiones cutáneas de varicela. (Reproducida, con autorización, de Gelb LD: Varicella-zoster virus. En: *Virology*, 2a ed. Fields BN *et al* [editores]. Raven Press, 1990.)

tecen los nervios afectados. El tronco, la cabeza y el cuello son por lo común los más afectados (figura 33-9), en donde está involucrada la división oftálmica del nervio trigémino en 10 a 15% de los casos. La complicación más común del zoster en los ancianos es la neuralgia posherpética, dolor prolongado que podría continuar durante meses. Es común sobre todo después del zoster oftálmico. La enfermedad visceral, en particular la neumonía, es la causa de muertes que se presentan en pacientes inmunodeprimidos que tienen herpes zoster (< 1% de los pacientes).

Inmunidad

Los virus de la varicela y el herpes zoster son idénticos. Las dos enfermedades son resultado de respuestas diferentes del huésped. Se cree que la infección previa con varicela confiere inmunidad de por vida respecto de la varicela. Los anticuerpos inducidos por la vacuna de varicela persisten durante por lo menos 20 años. El zoster se presenta en presencia de anticuerpo neutralizante para varicela.

Podrían presentarse incrementos en el título de anticuerpo de varicela en personas con infecciones por VHS.

El desarrollo de inmunidad mediada por células específicas del virus de la varicela zoster es importante en la recuperación de varicela y zoster. La aparición de interferón local podría contribuir también a la recuperación.

El virus de la varicela zoster, al igual que otros herpesvirus, codifica medios de evadir respuestas inmunes del huésped. Por ejemplo, desregula la expresión de antígeno clases I y II del complejo principal de histocompatibilidad.

Diagnóstico de laboratorio

En frotis teñidos de fragmentos o muestras tomadas de la base de las vesículas (frotis de Tzanck), se observan células gigantes multinucleadas (figura 33-7). Estas no se encuentran en vesículas no herpéticas. Mediante tinción de inmu-

cientes inmunocomprometidos. Es la causa de muchas muertes relacionadas con la varicela.

Los pacientes inmunocomprometidos tienen mayor riesgo de complicaciones de varicela, entre otros, aquellos con malignidades, trasplantes de órganos o infección por VIH y los que reciben dosis altas de corticosteroides. Existe la posibilidad de coagulación intravascular diseminada que produce la muerte con rapidez. Los niños con leucemia en particular son propensos a desarrollar enfermedad diseminada grave por virus de varicela zoster.

B. Zoster

El zoster se presenta por lo común en personas inmunocomprometidas como resultado de enfermedad, terapia o envejecimiento, pero en ocasiones se manifiesta en adultos jóvenes saludables. Normalmente comienza con dolor intenso en el área de la piel o mucosa abastecida por uno o más grupos de nervios y ganglios sensoriales. Pocos días después del inicio aparece sobre la piel un grupo de vesículas al que abas-

causadas por VHS-1 o VHS-2, o en enfermedad cuando el virus se adquiere durante o después del parto.

Las infecciones por herpes neonatal casi siempre son sintomáticas. El índice de mortalidad global de la enfermedad sin tratamiento es 50%. Los recién nacidos con herpes neonatal exhiben tres categorías de enfermedad: 1) lesiones localizadas en piel, ojos y boca; 2) encefalitis con o sin afectación localizada de la piel, y 3) enfermedad diseminada que afecta a varios órganos, entre otros el sistema nervioso central. El peor pronóstico (tasa de mortalidad de alrededor de 80%) se aplica a infantes con infección diseminada, muchos de los cuales desarrollan encefalitis. La causa de muerte de neonatos con enfermedad diseminada por lo general neumonitis viral o coagulopatía intravascular. Muchos sobrevivientes de infecciones graves quedan con daño neurológico permanente.

G. Infecciones en huéspedes inmunodeficientes

Los pacientes inmunodeficientes tienen mayor riesgo de desarrollar infecciones graves por VHS. Éstos son pacientes inmunodeficientes por enfermedad o tratamiento (en particular aquellos con inmunidad celular deficiente) e individuos con desnutrición. Los receptores de trasplante renal, cardíaco y de médula ósea están en riesgo particular de infecciones graves por herpes. Los pacientes con malignidades hematológicas y pacientes con SIDA experimentan infecciones más frecuentes por VHS y graves. Las lesiones por herpes se podrían diseminar y afectar las vías respiratorias, esófago y mucosa intestinal. Los niños desnutridos son propensos a infecciones por VHS diseminadas y fatales. En la mayor parte de los casos, la enfermedad refleja reactivación de la infección latente por VHS.

Inmunidad

Muchos recién nacidos adquieren anticuerpos maternos transferidos de forma pasiva. Estos anticuerpos se pierden durante los primeros seis meses de vida, y el periodo de mayor susceptibilidad para infección primaria por herpes se presenta entre edades de seis meses y dos años. Los anticuerpos adquiridos de forma transplacentaria de la madre no protegen por completo contra la infección al recién nacido, sino que al parecer mejoran la infección o incluso la evitan. Los anticuerpos de VHS-1 comienzan a aparecer en la población en la primera infancia; en la adolescencia, están presentes en la mayoría de las personas. Los anticuerpos para VHS-2 surgen durante la edad de la adolescencia y la actividad sexual.

Durante las infecciones primarias, los anticuerpos IgM aparecen de forma transitoria y van seguidos de anticuerpos IgG e IgA que persisten durante largos periodos. Mientras más grave sea la infección primaria o más frecuentes sean las recurrencias, mayor es la intensidad de respuesta del anticuerpo. Sin embargo, el patrón de respuesta del anticuerpo no se ha correlacionado con la frecuencia de recurrencia de la enfermedad. La inmunidad mediada por células y los factores inespecíficos del huésped (células asesinas naturales, interferón) son importantes en el control de infecciones primarias y recurrentes por VHS.

Después de la recuperación de una infección primaria (poco evidente, leve o grave), el virus es llevado en un estado latente en presencia de anticuerpos. Estos anticuerpos no evitan la reinfección o la reactivación del virus latente, sino que podrían modificar la enfermedad subsecuente.

Diagnóstico de laboratorio

A. Citopatología

Un método citológico rápido es teñir las raspaduras obtenidas de la base de una vesícula (p. ej., con tinción de Giemsa). La presencia de células gigantes multinucleadas indica que está presente el herpesvirus (VHS-1, VHS-2 o varicela zoster). Lo que distingue a las lesiones de las causadas por virus Coxsackie y entidades no virales.

B. Aislamiento e identificación del virus

El aislamiento del virus aún es el método de diagnóstico definitivo. Los virus se pueden aislar de lesiones herpéticas y también se pueden encontrar en lavados de garganta, líquido cefalorraquídeo y heces, tanto durante la infección primaria como durante periodos asintomáticos. Por tanto, el aislamiento de VHS no es en sí evidencia suficiente para indicar que el virus es el agente causante de una enfermedad en investigación.

La inoculación de cultivos de tejido se usa para aislamiento viral. El agente se identifica entonces por prueba Ni o tinción de inmunofluorescencia con antisuero específico. La tipificación de aislados de VHS se podría hacer por medio de anticuerpos monoclonales o por análisis de endonucleasas de restricción de DNA viral pero sólo es útil para estudios epidemiológicos.

C. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Los estudios de PCR se pueden usar para detectar virus y son sensibles y específicos. La amplificación de la PCR de DNA viral de líquido cefalorraquídeo ha remplazado al aislamiento viral del tejido cerebral obtenido mediante biopsia o en el examen *post mortem* como el estudio estándar para diagnóstico específico de infecciones por VHS del sistema nervioso central.

D. Serología

Los anticuerpos aparecen en los días 4 a 7 después de la infección y alcanzan un máximo en 2 a 4 semanas. Persisten con fluctuaciones menores durante la vida del huésped.

El valor diagnóstico de los estudios serológicos está limitado por antígenos múltiples compartidos por VHS-1 y VHS-2. También podría haber algunas respuestas anamnésticas heterotópicas al virus de varicela zoster en personas infectadas con VHS, y viceversa. El uso de anticuerpos de VHS específicos para el tipo, disponibles en algunos laboratorios de investigación, permiten pruebas más significativas.

Epidemiología

Los virus de herpes simple están distribuidos a nivel mundial. No hay reservorios animales o vectores que tengan

que ver con los virus humanos. La transmisión es por contacto con secreciones infectadas. La epidemiología de los virus de herpes simple tipos 1 y 2 es diferente.

Es probable que la presencia de VHS-1 en los humanos sea más constante que la de cualquier otro virus. La infección primaria se presenta al inicio de la vida y por lo común es asintomática; en ocasiones, produce enfermedad bucofaringea (gingivostomatitis en niños, faringitis en adultos jóvenes). Se desarrollan anticuerpos, pero el virus no se elimina del cuerpo; se establece un estado portador que dura toda la vida y lo remarcen los ataques recurrentes transitorios de herpes.

La mayor incidencia de infección por VHS-1 se presenta entre niños de seis meses a tres años de edad. En la edad adulta, 70 a 90% de las personas tienen anticuerpos tipo 1. Hay una tasa alta de variación geográfica en seroprevalencia. Los individuos de la clase media en países desarrollados adquieren anticuerpos a edad más avanzada que los de poblaciones con menor nivel socioeconómico. Es de suponer que esto refleja condiciones de vida más aglomeradas e higiene deficiente entre los últimos. El virus se disemina por contacto directo con saliva infectada o por medio de utensilios contaminados con la saliva de un portador del virus. La fuente de infección para los niños por lo común es un adulto con lesión herpética asintomática o que excreta el virus en la saliva pero que es asintomático.

La frecuencia de las infecciones recurrentes por VHS-1 varía ampliamente entre los individuos. En algún momento determinado, 1 a 5% de los adultos normales estará excretando el virus, a menudo en ausencia de síntomas clínicos.

En general el VHS-2 se adquiere como una enfermedad transmitida sexualmente, así que los anticuerpos para este virus pocas veces se encuentran antes de la pubertad. Se estima que en EUA hay cerca de 40 a 60 millones de individuos infectados. Los estudios de prevalencia de anticuerpos se complican por la reactividad cruzada entre los tipos 1 y 2 de VHS. Estudios con antígenos glucoproteínicos tipo específico recientemente determinaron que 20% de los adultos de EUA poseen anticuerpos de VHS-2, con una seroprevalencia más alta entre mujeres que hombres y mayor en negros que en blancos.

Las infecciones genitales recurrentes podrían ser sintomáticas o asintomáticas. Cualquier situación provee un reservorio de virus para transmisión a personas susceptibles. El VHS-2 tiende a recurrir con más frecuencia que el VHS-1, independientemente del sitio de la infección.

Las infecciones genitales maternas por VHS presentan riesgos para la madre y el feto. Rara vez la mujer embarazada podría desarrollar enfermedad diseminada después de la infección primaria, con una tasa alta de mortalidad. La infección primaria antes de 20 semanas de gestación ha sido relacionada con aborto espontáneo. El feto puede contraer la infección como resultado de la diseminación viral desde lesiones recurrentes en el conducto del parto al momento del mismo. Las estimaciones de la frecuencia de diseminación cervical del virus entre las mujeres varían mucho.

Las infecciones genitales por VHS incrementan el contagio de infecciones por virus de inmunodeficiencia humana (VIH) tipo 1 debido a que las lesiones ulcerativas se abren en la superficie de las mucosas.

Tratamiento, prevención y control

Varios fármacos antivirales han demostrado efectividad contra infecciones por VHS, entre ellos aciclovir, valaciclovir y vidarabina (capítulo 30). En la actualidad el aciclovir es la terapia estándar. Todos son inhibidores de la síntesis de DNA viral. La cinasa de timidina de VHS monofosforilada al aciclovir, un nucleósido análogo, y luego las cinasas celulares lo convierten a la forma de trifosfato. La polimerasa de VHS incorpora de manera eficaz al trifosfato de aciclovir en el DNA viral, donde evita después la elongación de la cadena. Los fármacos podrían suprimir las manifestaciones clínicas, acortar el tiempo de recuperación y reducir las recurrencias de herpes genital. Sin embargo, el VHS permanece latente en los ganglios sensoriales. Podrían surgir cepas de virus resistentes a fármacos.

Los recién nacidos y personas con eccema deben estar protegidos de exposición a personas con lesiones herpéticas activas.

Están siendo elaboradas vacunas experimentales de varios tipos. Un método es usar antígenos de glucoproteína purificada encontrados en la envoltura viral, expresados en algún sistema recombinante. Esta clase de vacunas podría ser útil para la prevención de infecciones primarias. Una vacuna de glucoproteína de VHS-2 recombinante probada en un estudio multicéntrico reciente evitó infecciones de herpes genital en mujeres que fueron seronegativas para VHS-1 y VHS-2; no resultó efectiva en mujeres que fueron seropositivas para VHS-1, o en varones.

VIRUS DE VARICELA ZOSTER

La varicela es una enfermedad leve muy contagiosa, principalmente de niños, caracterizada desde el punto de vista clínico por una erupción vesicular generalizada de la piel y membranas mucosas. La enfermedad podría ser grave en adultos y en niños inmunocomprometidos.

El zoster es una enfermedad esporádica incapacitante de los adultos o individuos inmunocomprometidos, que se caracteriza por exantema limitado en distribución respecto de la piel inervada por un solo ganglio sensitivo. Las lesiones son similares a las de la varicela.

El mismo virus causa ambas enfermedades. La varicela es la enfermedad aguda que sigue al contacto primario con el virus, en tanto que el zoster es la respuesta del huésped parcialmente inmune a la reactivación del virus de la varicela presente en forma latente en neuronas de ganglios sensoriales.

Propiedades del virus

El virus de la varicela zoster es idéntico morfológicamente al virus de herpes simple. No tiene reservorio animal. El virus se propaga en cultivos de tejido embrionario humano y produce cuerpos de inclusión intranuclear característicos (figura 33-3B). Los cambios citopáticos son más focales y se diseminan de forma mucho más lenta que los inducidos por VHS. Los virus infecciosos mantienen una relación muy

estrecha con las células, y la propagación serial se lleva a cabo con más facilidad por el paso de células infectadas que de líquidos de cultivo de tejido.

El mismo virus causa varicela y zoster. Los aislados virales de las vesículas de pacientes con varicela o zoster no muestran variación genética importante. La inoculación de líquido de vesícula zoster en los niños produce varicela. Los niños que se han recuperado de la infección inducida por el virus de zoster son resistentes a la varicela.

Patogenia y patología

A. Varicela

La ruta de infección es la mucosa del tracto respiratorio superior o la conjuntiva (figura 33-6). Después de la replicación inicial en los ganglios linfáticos regionales, la viremia primaria disemina al virus y da lugar a la replicación en el hígado y en el bazo. La viremia secundaria en la que intervienen células mononucleares infectadas transporta los virus a la piel, donde se presenta exantema característico. El edema de células epiteliales, la degeneración de por inflamación y la acumulación de líquido tisular dan como resultado la formación de vesículas (figura 33-7).

Las respuestas inmunes humores y celulares del huésped limitan la replicación y diseminación del virus de la varicela zoster. Es posible que también este relacionado el interferón.

B. Zoster

Las lesiones cutáneas de zoster son idénticas desde el punto de vista histopatológico a las de la varicela. Hay una inflamación aguda de los nervios y ganglios sensoriales. Es común que sólo esté involucrado un solo ganglio. Como regla, la distribución de las lesiones en la piel corresponde de manera estrecha a las áreas de inervación desde un solo ganglio de la raíz dorsal.

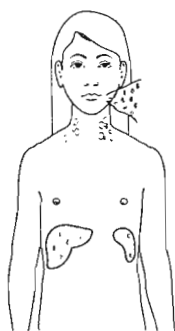
No está claro qué dispara la reactivación de infecciones latentes por virus de varicela zoster en los ganglios. Se cree que la inmunidad cada vez menor permite que se presente la replicación viral en un ganglio, que causa inflamación y dolor intensos. El virus recorre el nervio hasta la piel e induce la formación de vesículas. La inmunidad mediada por células quizá es la defensa más importante del huésped para contener al virus de la varicela zoster. Las reactivaciones son esporádicas y ocurren rara vez.

Datos clínicos

A. Varicela

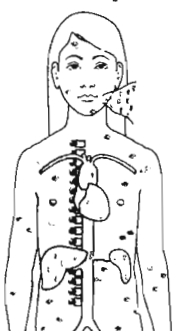
La varicela subclínica es poco usual. El período de incubación de la enfermedad ordinaria es de 10 a 21 días. El malestar general y la fiebre son los primeros síntomas, seguidos pronto por exantema, primero en el tronco y luego en la cara, las extremidades y la mucosa bucal y faríngea en la boca. Las vesículas nuevas sucesivas aparecen en grupos, así que se podrían observar a la vez las etapas de macúlas, pápulas, vesículas y costras (figura 33-8). El exantema dura unos cinco días, y la mayoría de los niños presenta varios cientos de lesiones cutáneas.

Período de incubación



- { Inoculación de la mucosa respiratoria
- { Replicación viral en ganglios regionales
→ células infectadas por virus ingresan a los capilares
- { Viremia primaria
→ replicación en el hígado y bazo

Enfermedad aguda



- { Viremia secundaria: transporte de células mononucleares a la piel y mucosas
- { Liberación de virus en las secreciones del aparato respiratorio
- { Replicación en células epidérmicas
Virus en el ganglio de la raíz dorsal
- { VVZ inmunidad específica
→ resolución de la replicación

Figura 33-6. Patogénesis de infección primaria con virus de la varicela zoster. El período de incubación con viremia primaria dura de 10 a 21 días. Una fase virémica secundaria da como resultado transporte de virus a la piel y sitios de las mucosas respiratorias. La replicación de células epidérmicas causa el exantema característico de la varicela. La inducción de inmunidad específica por el virus de la varicela zoster se requiere para terminar la replicación viral. El virus tiene acceso a células de los ganglios trigémino y de la raíz dorsal durante la infección primaria y establece la latencia. (Reproducida, con autorización, de Arvin AM: *Varicella-zoster virus*. En: *Fields Virology*, 3a ed. Fields BN et al [editores]. Lippincott-Raven, 1996).

Las complicaciones son raras en niños sanos y la tasa de mortalidad es muy baja. La encefalitis se presenta en casos raros y puede poner la vida en peligro. Los sobrevivientes de encefalitis por varicela podrían quedar con secuelas permanentes. En la varicela neonatal, la infección se contrae de la madre justo antes o después del nacimiento, pero sin respuesta inmune suficiente para modificar la enfermedad. Es común que el virus se disemine ampliamente y podría resultar fatal. Se han descrito casos de síndrome de varicela congénita después de los casos maternos de varicela durante el embarazo.

La neumonía por varicela es rara en niños sanos, pero es la complicación más común en neonatos, adultos y pa-

Figura 33-7. Infección por varicela zoster. Se observan células cabocadas y vacuolización citoplásmica en la que se ven núcleos de 480 x. Intranúcleos amplios, da en el x). D: virus muestra núcleo dérmico de 40 x). C: células zoster (res). Rav...

cientes in...
tes relac...
Los...
riesgo de...
con mal...
VIH y lo...
te la pos...
que prod...
en partic...
minada g...

B. Zoster
El zoster...
prometid...
jecimient...
saludable...
área de la...
nervios y...
cio apare...

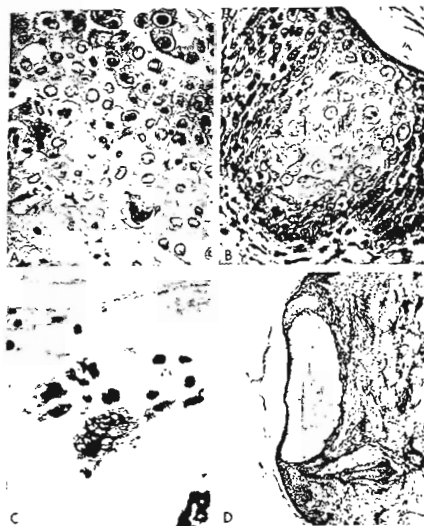


Figura 33-7. Cambios histológicos característicos de la infección por virus de la varicela zoster. Las biopsias con sacabocados de vesículas de virus de la varicela zoster se fijaron y tiñeron con hematoxilina-eosina. A: infección inicial en la que se observa "degeneración de balón" de células con núcleos basofílicos y cromatina marginada (reducida de 480 x). B: infección posterior que muestra inclusiones intranucleares eosinofílicas rodeadas por áreas claras y amplias (reducida de 480 x). C: célula gigante multinucleada en el techo de una vesícula de varicela (reducida de 480 x). D: vista de baja potencia de una vesícula temprana que muestra separación de la epidermis (acantolisis), edema dérmico e infiltración de células mononucleares (reducida de 40 x). (Reproducida, con autorización, de Gelb LD: Varicela-zoster virus. En: *Virology*, 2a ed. Fields BN et al [editores]. Raven Press, 1990.)

cientes inmunocomprometidos. Es la causa de muchas muertes relacionadas con la varicela.

Los pacientes inmunocomprometidos tienen mayor riesgo de complicaciones de varicela, entre otros, aquellos con malignidades, trasplantes de órganos o infección por VIH y los que reciben dosis altas de corticosteroides. Existe la posibilidad de coagulación intravascular diseminada que produce la muerte con rapidez. Los niños con leucemia en particular son propensos a desarrollar enfermedad diseminada grave por virus de varicela zoster.

B. Zoster

El zoster se presenta por lo común en personas inmunocomprometidas como resultado de enfermedad, terapia o envejecimiento, pero en ocasiones se manifiesta en adultos jóvenes saludables. Normalmente comienza con dolor intenso en el área de la piel o mucosa abastecida por uno o más grupos de nervios y ganglios sensoriales. Pocos días después del inicio aparece sobre la piel un grupo de vesículas al que abas-

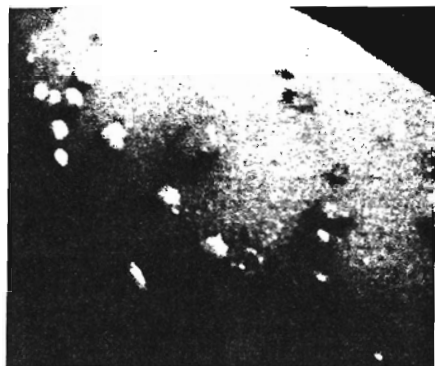


Figura 33-8. Etapas múltiples o "brotes" de lesiones cutáneas de varicela. (Reproducida, con autorización, de Gelb LD: Varicela-zoster virus. En: *Virology*, 2a ed. Fields BN et al [editores]. Raven Press, 1990.)

tecen los nervios afectados. El tronco, la cabeza y el cuello son por lo común los más afectados (figura 33-9), en donde está involucrada la división oftálmica del nervio trigémino en 10 a 15% de los casos. La complicación más común del zoster en los ancianos es la neuralgia posherpética, dolor prolongado que podría continuar durante meses. Es común sobre todo después del zoster oftálmico. La enfermedad visceral, en particular la neumonía, es la causa de muertes que se presentan en pacientes inmunodeprimidos que tienen herpes zoster (< 1% de los pacientes).

Inmunidad

Los virus de la varicela y el herpes zoster son idénticos. Las dos enfermedades son resultado de respuestas diferentes del huésped. Se cree que la infección previa con varicela confiere inmunidad de por vida respecto de la varicela. Los anticuerpos inducidos por la vacuna de varicela persisten durante por lo menos 20 años. El zoster se presenta en presencia de anticuerpo neutralizante para varicela.

Podrían presentarse incrementos en el título de anticuerpo de varicela en personas con infecciones por VHS.

El desarrollo de inmunidad mediada por células específicas del virus de la varicela zoster es importante en la recuperación de varicela y zoster. La aparición de interferón local podría contribuir también a la recuperación.

El virus de la varicela zoster, al igual que otros herpesvirus, codifica medios de evadir respuestas inmunes del huésped. Por ejemplo, desregula la expresión de antígeno clases I y II del complejo principal de histocompatibilidad.

Diagnóstico de laboratorio

En frotis teñidos de fragmentos o muestras tomadas de la base de las vesículas (frotis de Tzanck), se observan células gigantes multinucleadas (figura 33-7). Estas no se encuentran en vesículas no herpéticas. Mediante tinción de inmu-



Figura 33-9. A: herpes zoster en la distribución de nervios torácicos. (Cortesía de AA Gershon.) B: herpes zoster que afecta la división oftálmica del nervio trigémino con conjuntivitis relacionada y participación del lado de la nariz. (Reproducida con autorización, de Arvin AM: Varicella-zoster virus. En: *Fields Virology*, 3a ed. Fields BN et al [editores]. Lippincott-Raven, 1996)

no fluorescencia de frotis similares se puede demostrar la presencia de antígenos virales intracelulares.

Los procedimientos de diagnóstico rápido son útiles desde el punto de vista clínico para el virus de la varicela zoster. Los antígenos específicos del virus o DNA viral se detectan en líquido de vesículas, en fragmentos de piel o en material de biopsia. Los herpesvirus se pueden diferenciar de los poxvirus por la apariencia morfológica de las partículas en líquidos vesiculares examinados mediante microscopio electrónico (figura 33-10).

El virus se puede aislar del líquido de vesículas al principio del curso de la enfermedad por medio de cultivos de células humanas en los días 3 a 7. El virus de la varicela zoster en el líquido de vesículas es muy lábil, y los cultivos de células se deben inocular rápidamente.

Un aumento en el título de anticuerpos específicos se detecta en el suero del paciente mediante varias pruebas, como el anticuerpo fluorescente, aglutinación de látex y análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas. La elección del estudio que se va a usar depende del propósito de la prueba y de las instalaciones de laboratorio disponibles. Es importante la inmunidad mediada por células, pero difícil de demostrar.

Epidemiología

La varicela y el zoster se presentan a nivel mundial. La varicela es muy transmisible y es una enfermedad epidémica común de la infancia (la mayor parte de los casos se presentan en niños menores de 10 años de edad). También se presentan casos en adultos. En climas templados es mucho más común en invierno y primavera que en verano. El zoster se presenta de forma esporádica, sobre todo en adultos y sin prevalencia estacional. De 10 a 20% de los adultos experi-

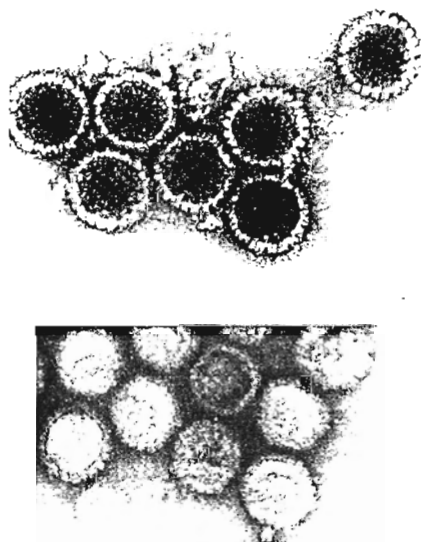


Figura 33-10. Parte superior: partículas de herpesvirus de líquido de vesícula humana, teñida con acetato de uranio para mostrar el centro de DNA (140 000 $\times$). Parte baja: viriones teñidos para mostrar capsómeros de proteína de la cubierta del virus (140 000 $\times$). Nota: herpesvirus diferentes no se distinguen mediante microscopio electrónico. (Cortesía de KO Smith y JL Melnick.)

mentan por lo menos un ataque de zoster durante su vida, por lo común después de los 50 años de edad.

La varicela se propaga con facilidad mediante gotitas en el aire y por contacto directo. Un paciente con varicela puede ser infectante (capaz de transmitir la enfermedad) desde poco antes de la aparición de exantema hasta los primeros días de exantema. La infección por contacto es menos común en el herpes zoster, quizá porque el virus no está presente en el tracto respiratorio en casos representativos. Los pacientes con zoster pueden ser fuente de varicela en niños susceptibles. Se ha detectado el DNA del virus de la varicela zoster por medio de un método de amplificación de la PCR en muestras de aire de cuartos de hospital de pacientes con infecciones activas de varicela (82%) y zoster (70%).

Tratamiento

La varicela en niños normales es una enfermedad leve y no requiere tratamiento. Los neonatos y los pacientes inmunocomprometidos con infecciones graves deben recibir tratamiento.

La γ globulina del título alto de anticuerpos del virus de la varicela zoster (globulina inmune de la varicela zoster) se puede usar para evitar la presencia de enfermedad en pacientes expuestos a la varicela con el alto riesgo de desarrollar enfermedad grave. Carece de valor terapéutico una vez iniciada la varicela. La globulina inmune estándar carece de valor debido a su título bajo de anticuerpos de varicela.

Varios compuestos antivirales proporcionan tratamiento eficaz para la varicela, como aciclovir, valaciclovir, famciclovir y foscarnet. El aciclovir evita el desarrollo de enfermedad sistémica en pacientes inmunocomprometidos infectados con varicela y detiene el avance del herpes zoster en adultos. Al parecer el aciclovir no evita la neuralgia posherpética.

Prevención y control

En 1995 se aprobó una vacuna atenuada viva de varicela para uso general en EUA. En Japón se ha usado con éxito durante cerca de 30 años una vacuna similar. La vacuna es muy eficaz en inducir protección contra la varicela en niños (85% de efectividad), pero menos en adultos (70%). Alrededor de 5% de los individuos presenta exantema leve relacionado con la vacuna un mes después de la inmunización. La transmisión del virus de la vacuna es rara pero puede presentarse cuando la vacuna produce exantema. El avance de infecciones de varicela puede presentarse en personas vacunadas, pero por lo común son enfermedades leves. Las personas vacunadas están en riesgo de manifestar zoster, pero los síntomas son menos intensos que los que siguen a la infección natural.

CITOMEGALOVIRUS

Los citomegalovirus son herpesvirus ubicuos que son causas comunes de enfermedad humana. El nombre para la

enfermedad por inclusiones citomegálicas clásica deriva de la propensión hacia el agrandamiento masivo de células infectadas con citomegalovirus.

La enfermedad por inclusiones citomegálicas es una infección generalizada de los infantes causada por infección intrauterina o posnatal temprana con el citomegalovirus. El citomegalovirus presenta un problema importante de salud pública debido a su alta frecuencia de infecciones congénitas, que podrían originar anomalías congénitas graves. La infección poco evidente es común durante la infancia y la adolescencia. Las infecciones graves por citomegalovirus por lo común se encuentran en adultos inmunosuprimidos.

Propiedades del virus

El citomegalovirus tiene el contenido genético más grande de los herpesvirus humanos. Su genoma de DNA (240 kpb) es significativamente mayor que el de VHS. Se han caracterizado sólo algunas de las muchas proteínas codificadas por el virus (más de 200). Una glucoproteína de la superficie celular actúa como un receptor Fc que puede unirse de forma no específica a la porción Fc de inmunoglobulinas. Esto podría ayudar a las células infectadas a evadir la eliminación inmune al proveer una cubierta protectora de inmunoglobulinas irrelevantes del huésped.

El principal promotor-intensificador inmediato de citomegalovirus es uno de los intensificadores conocidos más grandes, debido a la concentración de sitios de enlace para factores de transcripción celular. Se usa de forma experimental para apoyar la expresión de alto nivel de genes extraños.

Muchas cepas genéticamente distintas de citomegalovirus circulan en la población humana. Sin embargo, las cepas están relacionadas desde el punto de vista antigénico de manera suficiente, así que las diferencias entre cepas quizá no son determinantes importantes en la enfermedad humana.

Los citomegalovirus son muy específicos de la especie y del tipo de célula. Han fallado los intentos por infectar animales con citomegalovirus humanos. Existen varios citomegalovirus animales, todos específicos de la especie.

Los citomegalovirus humanos se duplican *in vitro* sólo en fibroplastos humanos, aunque el virus suele aislarse de células epiteliales del huésped. El citomegalovirus se duplica de forma muy lenta en células cultivadas, donde el desarrollo procede con más lentitud que el de VHS o el virus de la varicela zoster. Muy pocos virus están libres de células; la infección se disemina sobre todo de célula a célula. Podría tomar varias semanas para que se vea afectada una monocapa completa.

El citomegalovirus produce un efecto citopático característico (figura 33-3C). Se forman inclusiones citoplásmicas perinucleares además de las inclusiones intranucleares características del herpesvirus. Se observan células multinucleadas. Muchas células afectadas se agrandan mucho. Las células citomegálicas portadoras de inclusión se encuentran en muestras de individuos infectados (figura 33-11).

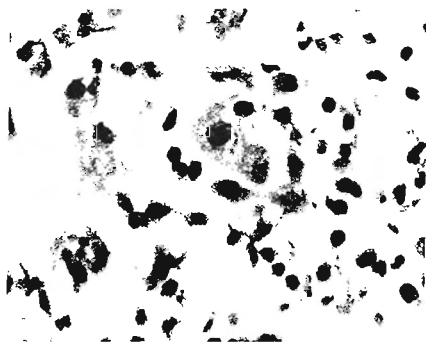


Figura 33-11. Células "citomegálicas" muy agrandadas características de la infección por citomegalovirus presentes en el pulmón de un infante prematuro que murió de enfermedad por citomegalovirus diseminado. (Cortesía de GJ Demmler.)

Patogenia y patología

A. Huéspedes normales

El citomegalovirus se puede transmitir de persona a persona en varias formas, las cuales requieren contacto directo con materia portadora del virus. Hay un periodo de incubación de 4 a 8 semanas en niños y adultos mayores normales después de la exposición viral. El virus causa una infección sistémica; éste ha sido aislado de pulmón, hígado, esófago, colon, riñones, monocitos y linfocitos T y B. La enfermedad es un síndrome infeccioso parecido a la mononucleosis, aunque la mayor parte de las infecciones por citomegalovirus son subclínicas. Al igual que los herpesvirus, el citomegalovirus establece infección latente para toda la vida. El virus puede ser propagado de forma intermitente desde la faringe y en la orina durante meses a años después de la infección primaria (figura 33-12). La infección prolongada del niño por citomegalovirus al parecer no es dañina en personas normales. La participación de las glándulas salivales es común y probablemente es crónica.

La inmunidad mediada por células se abate con las infecciones primarias (figura 33-12), y esto podría contribuir a la persistencia de infección viral. Podría tomar varios meses la recuperación de respuestas celulares.

B. Huéspedes inmunosuprimidos

Las infecciones primarias por citomegalovirus en huéspedes inmunosuprimidos son mucho más graves que en huéspedes normales. Los individuos en mayor riesgo de enfermedad por citomegalovirus son los que reciben trasplantes de órganos, los que tienen tumores malignos y están recibiendo quimioterapia y los que padecen SIDA. La excreción viral es intensa y prolongada, y la infección muestra mayor tendencia a diseminarse. La neumonía es la complicación más común.

Es de suponer que la respuesta inmune del huésped mantiene al citomegalovirus en un estado latente en indivi-

duos seropositivos. Las infecciones reactivadas se relacionan con enfermedad mucho más a menudo en pacientes inmunocomprometidos que en huéspedes normales. Aunque por lo común menos graves, las infecciones reactivadas podrían ser tan virulentas como las infecciones primarias.

C. Infecciones congénitas y perinatales

Las infecciones fetales y de recién nacidos con citomegalovirus podrían ser graves. Cerca de 1% de los nacidos vivos al año en EUA tienen infecciones congénitas por citomegalovirus y alrededor de 5 a 10% experimentarán enfermedad por inclusiones citomegálicas. Un porcentaje alto de bebés con esta enfermedad presentarán defectos en el desarrollo y retardo mental.

El virus se puede transmitir en el útero con infecciones maternas primarias y reactivadas. Cerca de un tercio de las mujeres embarazadas con infección primaria transmiten el virus. La enfermedad generalizada por inclusiones citomegálicas la mayor parte de las veces resulta de infecciones primarias maternas. No hay evidencia de que la edad gestacional al momento de la infección materna afecte la expresión de enfermedad en el feto. La transmisión intrauterina se presenta en cerca de 1% de mujeres seropositivas. Pocas veces resulta daño fetal de estas infecciones maternas reactivadas: la infección del infante permanece subclínica aunque crónica (figura 33-12).

El infante también puede contraer el citomegalovirus por exposición al virus en el tracto genital de la madre durante el parto y de la leche materna. En estos casos, los infantes normalmente han recibido algún anticuerpo materno, y las infecciones por citomegalovirus adquiridas perinatalmente tienden a ser subclínicas. Las infecciones por citomegalovirus adquiridas por transfusión en recién nacidos varían dependiendo de la cantidad de virus recibido y del estado serológico del donador de sangre. Si el citomegalovirus se adquiere en el útero o perinatalmente, resulta una infección más crónica, con respecto a la excreción viral, que cuando el virus se adquiere después en la vida (figura 33-12).

Datos clínicos

A. Huéspedes normales

La infección primaria con citomegalovirus de niños y adultos mayores por lo común es asintomática, pero en ocasiones causa síndrome espontáneo de mononucleosis infecciosa. La enfermedad se caracteriza por malestar general, mialgia, fiebre prolongada, anomalías de la función hepática y leucocitosis. Se estima que el citomegalovirus causa de 20 a 50% de los casos de mononucleosis negativa a heterófilos (ningún virus de Epstein-Barr).

La mononucleosis por citomegalovirus es una enfermedad leve, y las complicaciones son raras. La hepatitis subclínica es común. En niños jóvenes (menores de siete años de edad) con frecuencia se observa hepatosplenomegalia.

Se ha observado una relación entre la presencia de citomegalovirus y reestenosis después de la angioplastia coronaria. Se especula que el virus podría estar contribuyendo a la proliferación de células del músculo liso, lo que origina estenosis recurrente.

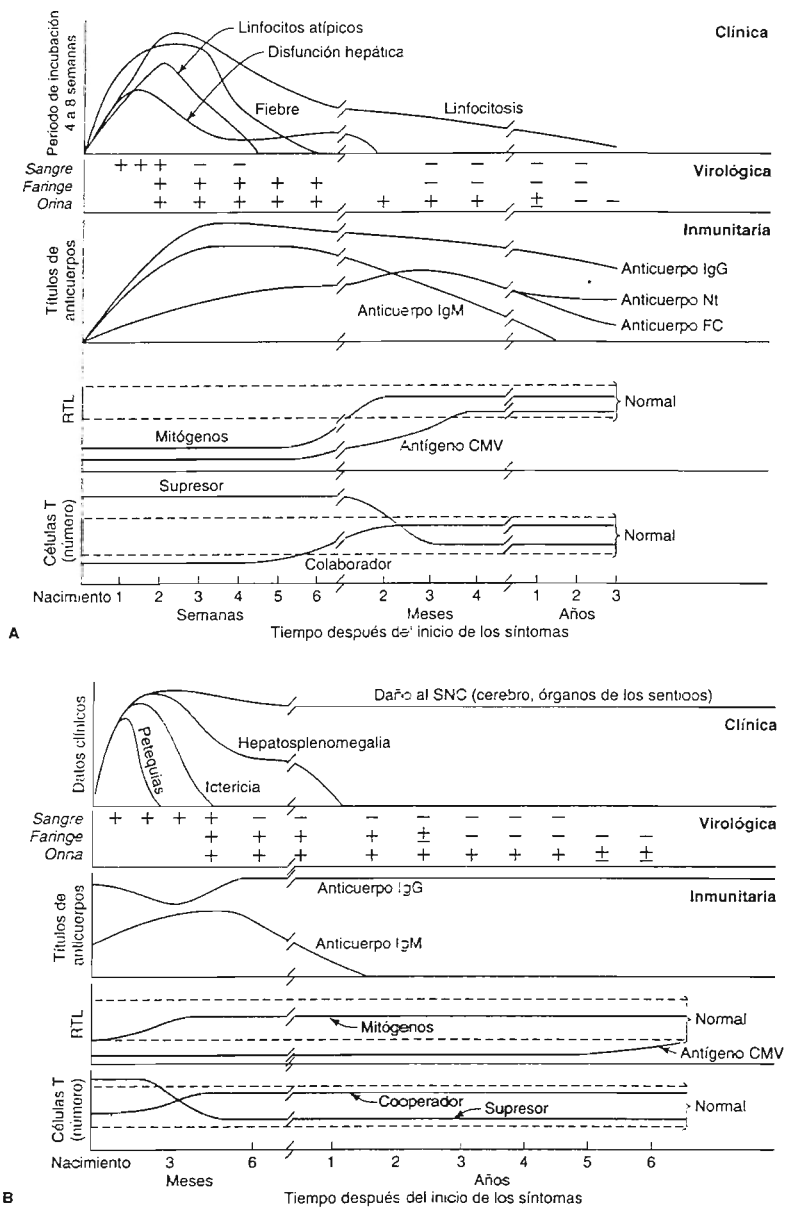


Figura 33-12. Características clínicas, virológicas e inmunológicas de infección por citomegalovirus (CMV) en individuos normales (A) y en infantes con infección congénita (B). LTR: respuesta de transformación linfocitaria. (Reproducida, con autorización, de Aford CA, Britt WJ: Cytomegalovirus. En: *Virology*, 2a ed. Fields BN *et al* [editores]. Raven Press, 1990.)

B. Huéspedes inmunocomprometidos

Los índices de morbilidad y mortalidad se incrementan con las infecciones primarias y recurrentes por citomegalovirus en individuos inmunocomprometidos. La neumonía es una complicación frecuente. La neumonitis intersticial causada por citomegalovirus se presenta en 10 a 20% de los receptores de trasplante de médula ósea. La leucopenia relacionada con virus es común en receptores de trasplante de órgano sólido; también se observa bronquiolitis obliterante en trasplantes de pulmón, aterosclerosis de injerto después del trasplante de corazón y rechazo relacionado con citomegalovirus de aloinjertos. El citomegalovirus suele causar enfermedad diseminada en pacientes con SIDA no tratados: la gastroenteritis y la coriorretinitis son problemas comunes, que después producen ceguera progresiva.

C. Infecciones congénitas y perinatales

La infección congénita podría producir la muerte del feto en el útero. La enfermedad por inclusiones citomegálicas de recién nacidos se caracteriza por la participación del sistema nervioso central y el sistema reticuloendotelial. Las características clínicas son retardo del crecimiento intrauterino, ictericia, hepatosplenomegalia, trombocitopenia, microcefalia y retinitis. Las tasas de mortalidad pueden llegar a 30%. La mayor parte de los sobrevivientes presenta defectos importantes del sistema nervioso central en dos años: son comunes la pérdida auditiva grave, las anomalías oculares y el retardo mental. Cerca de 10% de los infantes con infección congénita subclínica por citomegalovirus presentan sordera. Se ha estimado que 1 de cada 1 000 infantes que nacen en EUA tiene retraso mental grave como resultado de infección congénita por citomegalovirus.

Muchas mujeres infectadas previamente con citomegalovirus muestran reactivación y comienzan a excretar el virus desde la cérvix durante el embarazo. Al momento del parto a través del canal infectado, los infantes se podrían infectar, aunque poseen títulos altos de anticuerpos maternos adquiridos de forma transplacentaria. Estos infantes comienzan a excretar virus alrededor de las 8 a 12 semanas de edad. Continúan excretando virus durante años pero permanecen saludables.

La infección adquirida con citomegalovirus es común y normalmente poco evidente. El virus se disemina en la saliva y en la orina de individuos infectados durante semanas o meses. El citomegalovirus podría ser una causa de neumonía aislada en infantes menores de seis meses de edad.

Inmunidad

Los anticuerpos para citomegalovirus se encuentran en la mayor parte del suero humano. Se han detectado anticuerpos específicos de citomegalovirus de las clases IgM, IgA e IgG. La reactivación de la infección latente se presenta en presencia de inmunidad humoral. La presencia de anticuerpos en la leche materna no evita la transmisión de infección a infantes alimentados con leche materna. El anticuerpo de la madre protege más contra el desarrollo de enfermedad grave en el infante que contra la transmisión viral.

Diagnóstico de laboratorio

A. Reacción en cadena de la polimerasa y pruebas de detección de antígeno

Las pruebas de PCR han reemplazado el aislamiento del virus para la detección rutinaria de infecciones por citomegalovirus. Los métodos de cultivo de células de aislamiento viral son muy lentos para ser útiles en guiar el tratamiento, en particular en pacientes inmunosuprimidos. Las pruebas de PCR se diseñan para detectar virus que se duplican, no genomas virales latentes, y por lo común se realizan en sangre y orina. Las pruebas de PCR proporcionan datos de carga viral, que al parecer son importantes para predecir enfermedad por citomegalovirus. Los anticuerpos monoclonales contra antígenos virales se pueden usar para detectar leucocitos positivos al virus en los pacientes.

B. Aislamiento del virus

Los fibroblastos humanos se usan para intentos de aislamiento del virus. El virus se puede recuperar con más facilidad de lavados de garganta y en orina. En cultivos, se necesitan de 2 a 3 semanas para la aparición de cambios citológicos, que consisten en focos pequeños de células hinchadas translúcidas con grandes inclusiones intranucleares (figuras 33-3C, 33-3D). El virus permanece relacionado con la célula.

C. Serología

Mediante muchos tipos de estudios se detectan anticuerpos IgG de citomegalovirus, lo que indica infección pasada (y la posibilidad de experimentar reactivación). La detección de anticuerpos IgM virales hace pensar en una infección recurrente. Los estudios serológicos no son informativos para pacientes inmunocomprometidos. Además, con las técnicas serológicas no se distinguen diferencias de cepa entre los aislados clínicos.

Epidemiología

El citomegalovirus es endémico en todas partes del mundo; se desconocen epidemias. Está presente todo el año, sin ninguna variación temporal observada en las tasas de infección.

La prevalencia de infección varía con el estado socioeconómico, condiciones de vida y prácticas de higiene. La prevalencia de anticuerpos puede ser moderada (40 a 70%) en adultos en grupos socioeconómicos altos en países desarrollados, en contraste con una prevalencia de 90% en niños y adultos en naciones en desarrollo y en grupos de bajo nivel socioeconómico en países desarrollados.

Los humanos son el único huésped conocido para citomegalovirus. La transmisión requiere contacto cercano de persona a persona. El virus se podría propagar en orina, saliva, semen, leche materna y secreciones cervicales, y es transportado en los leucocitos circulantes. La diseminación oral y respiratoria es quizá la ruta dominante de transmisión del citomegalovirus. También se puede diseminar de forma transplacentaria, por transfusión de sangre, trasplante de órganos y contacto sexual.

Las infecciones recientes casi siempre son asintomáticas. Después de la infección, el virus se propaga desde dis-

tintos sitios. La diseminación del virus podría continuar durante años, a menudo de forma intermitente, cuando se reactiva el virus latente. Así, las exposiciones a citomegalovirus son extensas y comunes.

La infección intrauterina podría producir enfermedad grave en el recién nacido. Cerca de 1% de los infantes que nacen en EUA se infectan con citomegalovirus. La mayoría tiene infecciones subclínicas pero crónicas; 5 a 10% tienen enfermedad por inclusiones citomegálicas con defectos concomitantes del desarrollo y mortalidad alta. Las infecciones congénitas, subclínicas o con evidencia clínica producen infecciones crónicas, con diseminación viral detectable durante años. Muchos más infantes se infectan con citomegalovirus en los primeros meses de vida, por lo común por leche materna infectada o contagio en el jardín de niños. La mayor parte de estas infecciones son subclínicas pero crónicas, con diseminación viral persistente.

Las infecciones maternas primarias durante el embarazo son la causa de la mayor parte de los casos de enfermedad por inclusiones citomegálicas. Los infantes y los niños con infecciones subclínicas por citomegalovirus son la fuente principal de exposición. Otras infecciones congénitas se deben a reactivaciones de infecciones maternas latentes.

El citomegalovirus se transmite mediante transfusión de sangre. El riesgo estimado varía mucho, pero es cercano a 1 a 5% por unidad de sangre completa. Los receptores de trasplante de órgano sólido seronegativos están en riesgo, ya que un órgano seropositivo transmite el virus en 60 a 80% de los casos.

Las infecciones por citomegalovirus son notablemente mayores en poblaciones inmunosuprimidas: los receptores de trasplante suelen manifestar infecciones, las cuales en su mayoría se deben a reactivaciones de sus propios virus latentes.

Tratamiento y control

Los tratamientos de infecciones por citomegalovirus con fármacos han mostrado algunos resultados alentadores. El ganciclovir, un nucleósido relacionado estructuralmente con el aciclovir, se ha usado con éxito para tratar infecciones por citomegalovirus que ponen en riesgo la vida de pacientes inmunocomprometidos. El ganciclovir reduce la gravedad de retinitis, esofagitis y colitis por citomegalovirus. Además, el tratamiento oportuno con ganciclovir reduce la incidencia de neumonía por citomegalovirus en receptores de aloinjertos de médula ósea. El ganciclovir también controla la pérdida auditiva progresiva en neonatos con infecciones congénitas. El foscarnet, un análogo de pirofosfato orgánico, se recomienda para el tratamiento de retinitis por citomegalovirus. El aciclovir y el valaciclovir han mostrado algunos beneficios en pacientes con trasplantes renales y de médula ósea.

Faltan medidas de control específicas para evitar la diseminación de citomegalovirus. Se recomienda el aislamiento de recién nacidos con enfermedad generalizada por inclusiones citomegálicas de otros recién nacidos.

La selección de donadores y receptores de trasplante para anticuerpos de citomegalovirus podría evitar algunas transmisiones de citomegalovirus primario. La población de receptores de trasplante seronegativos a citomegalovirus representa un grupo de alto riesgo para infecciones por ci-

tomegalovirus. La administración de IgG humana preparada de mezclas de plasma obtenidas de personas saludables con títulos altos de anticuerpos de citomegalovirus (inmunoglobulina específica para citomegalovirus) ha dado resultados contradictorios en pruebas para disminuir la incidencia de infecciones virales en receptores de trasplante. La inmunoglobulina específica para citomegalovirus tiene un suministro limitado.

El uso de sangre de donadores seronegativos se recomienda cuando los infantes requieren transfusiones múltiples. Con este método se eliminarían las infecciones por citomegalovirus adquiridas por transfusión, pero es difícil ponerlo en práctica.

Tanto las vacunas de citomegalovirus vivo como las de recombinante están en desarrollo.

VIRUS EPSTEIN-BARR

El virus Epstein-Barr (VEB) es un herpesvirus ubicuo que es el agente causante de mononucleosis infecciosa aguda, carcinoma nasofaríngeo, linfomas, linfoma de Burkitt y otros trastornos linfoproliferativos en individuos inmunodeficientes.

Propiedades del virus

El genoma del DNA de VEB contiene unos 172 kpb, tiene un contenido de 59% de G + C y codifica alrededor de 100 genes. Hay dos tipos (VEB-1 y VEB-2), con base en diferencias en los genes de antígeno nuclear en estado latente (EBNA y EBER).

Biología del VEB

La célula blanco principal para VEB es el linfocito B. Cuando los linfocitos B humanos se infectan con VEB, se establecen líneas continuas de células, señal de que el virus ha immortalizado las células. Muy pocas células immortalizadas producen virus infecciosos. La falta de un sistema celular permisivo capaz de propagar el virus ha obstaculizado los estudios de laboratorio de VEB.

El VEB inicia la infección de las células B mediante enlace con el receptor viral, que es el receptor para el componente C3d del complemento (CR2 o CD21). El VEB entra de manera directa a un estado latente en el linfocito sin experimentar un periodo de replicación viral completa. Las marcas distintivas de latencia son persistencia viral, expresión restringida del virus y la posibilidad de reactivación y replicación lítica.

La eficacia de la immortalización células B por VEB es muy alta. Cuando el virus se une a la superficie de la célula, las células se activan para entrar al ciclo celular. Después, se expresa un repertorio limitado de genes de VEB, y las células son capaces de proliferar de forma indefinida. El genoma lineal de VEB forma un círculo y se amplifica durante la fase S del ciclo celular: la mayor parte del DNA viral en las células immortalizadas existe como episomas circulares.

Los linfocitos B inmortalizados por VEB expresan funciones diferenciadas, como la secreción de inmunoglobulina. También se expresan los productos de activación de células B (p. ej., CD23). En las células inmortalizadas se expresan 10 productos génicos virales, que incluyen seis antígenos nucleares de VEB (EBNA1, 2, 3A-3C, LP), dos proteínas de membrana latentes (LMP1, 2) y dos RNA no traducidos pequeños (EBER1, 2).

En cualquier momento, muy pocas células (< 10%) en una población inmortalizada liberan partículas de virus. Se puede interrumpir la latencia y activar el genoma de VEB para llevar a cabo la replicación en una célula mediante diversos estímulos, como agentes de inducción química o inmunoglobulina de la superficie celular con enlaces cruzados.

El VEB se replica *in vivo* en células epiteliales de bucofaringe, glándula parótida y cuello uterino; se encuentra en células epiteliales de algunos carcinomas nasofaríngeos. Aunque las células epiteliales *in vivo* contienen un receptor de VEB, el receptor se pierde de células cultivadas.

El VEB se relaciona con varios trastornos linfoproliferativos. La expresión génica viral en estas células está limitada y varía de sólo EBNA1 al complemento total de proteínas encontradas en células B infectadas en estado latente.

B. Antígenos virales

Los antígenos de VEB se dividen en tres clases, con base en la fase del ciclo de vida viral en el que se expresan: 1) células infectadas en estado latente sintetizan antígenos de fase latente. Éstos son los EBNA y los LMP. Su expresión revela que está presente un genoma de VEB. De manera invariable se expresa sólo EBNA1, necesario para mantener episomas de DNA viral; la expresión de los otros antígenos de fase latente se podría regular en células distintas. LMP1 imita un receptor de factor de desarrollo activado. 2) Los antígenos iniciales son proteínas no estructurales cuya síntesis no depende de la replicación de DNA viral. La expresión de los primeros antígenos indica el inicio de replicación viral productiva. 3) Los antígenos tardíos son componentes estructurales de la cápsida viral (antígeno capsídico viral) y la envoltura viral (glucoproteínas). Se producen de forma abundante en células que experimentan infección viral productiva.

C. Infecciones experimentales en animales

El VEB es muy específico de la especie. Sin embargo, los monos tamarinos con cabeza de algodón inoculados con VEB suelen desarrollar linfomas malignos fatales.

Patogenia y patología

A. Infección primaria

El VEB se transmite por lo común mediante saliva infectada, y la infección se inicia en la bucofaringe. La replicación viral se presenta en células epiteliales (o linfocitos B superficiales) de la faringe y glándulas salivales. Muchas personas dispersan concentraciones bajas del virus durante semanas a meses después de la infección. Las células B infectadas diseminan la infección desde la bucofaringe por todo el cuerpo. En individuos normales, la mayor parte de

las células infectadas se eliminan, pero persisten cantidades pequeñas de linfocitos infectados en estado latente durante el tiempo de vida del huésped (una en 10^5 a 10^6 células B).

Las infecciones primarias en niños por lo regular son subclínicas, pero si se presentan en adultos jóvenes suele desarrollarse mononucleosis infecciosa aguda. La mononucleosis es una estimulación policlónica de linfocitos. Las células B infectadas por VEB sintetizan inmunoglobulina. Los autoanticuerpos son característicos de la enfermedad, con anticuerpo heterófilo que reacciona con antígenos en eritrocitos de carnero, el autoanticuerpo clásico.

B. Reactivación desde la latencia

Es posible que se presenten reactivaciones de infecciones latentes por VEB, según lo demuestran las mayores concentraciones de virus en la saliva y el DNA de células sanguíneas. Éstas por lo común son silenciosas desde el punto de vista clínico. Se sabe que la inmunosupresión reactiva la infección, algunas veces con consecuencias graves.

C. Tumores

Se reconoce al VEB como causa de linfoma de Burkitt, carcinoma nasofaríngeo, enfermedad de Hodgkin y algunos otros linfomas. El suero de pacientes con linfoma de Burkitt o carcinoma nasofaríngeo contiene concentraciones elevadas de anticuerpo para antígenos específicos del virus, y los tejidos tumorales contienen DNA de VEB y expresan una cantidad limitada de genes virales. Los linfomas de células B relacionados con VEB son una complicación para pacientes con inmunodeficiencia.

Datos clínicos

La mayor parte de las infecciones primarias en niños son asintomáticas. En adolescentes y adultos jóvenes, el síndrome clásico relacionado con la infección primaria es la mononucleosis infecciosa (alrededor de 50% de infecciones). El VEB se relaciona también con varios tipos de cáncer.

A. Mononucleosis infecciosa

Después del periodo de incubación de 30 a 50 días, se presentan síntomas de cefalea, fiebre, malestar general, fatiga y ardor de garganta. Son característicos el aumento de tamaño de los ganglios linfáticos y el bazo. Algunos pacientes presentan signos de hepatitis.

La enfermedad común es autolimitada y dura de 2 a 4 semanas. Durante la enfermedad hay un incremento en el número de leucocitos circulantes, con predominio de linfocitos. Muchos de estos son linfocitos T atípicos grandes. La fiebre leve y el malestar general podrían persistir durante semanas a meses después de la enfermedad aguda. Las complicaciones son raras en huéspedes normales.

B. Leucoplaquia pilosa bucal

Esta lesión es un crecimiento parecido a verrugas que se forma en la lengua en algunas personas infectadas por VIH y pacientes con trasplante. Es un foco epitelial de replicación de VEB.

C. Linfoma

El VEB es el agente causal de la enfermedad de Burkitt (un tipo de linfoma) en niños jóvenes. Los linfomas de células B (cáncer de la sangre) se relacionan con el VEB en la mayoría de los casos. En los linfomas de células B, el VEB se encuentra en la etapa de la enfermedad, pero no en la etapa de la remisión. El VEB también se encuentra en el líquido cefalorraquídeo, pero no en el líquido cefalorraquídeo de los niños con linfoma de Burkitt.

D. Cáncer

Este cáncer se origina en las células epiteliales de la boca y en las células epiteliales de la nariz. El VEB se encuentra en las células epiteliales de la boca y en las células epiteliales de la nariz. El VEB se encuentra en las células epiteliales de la boca y en las células epiteliales de la nariz.

E. Enfermedad en huérfanos

Los pacientes con enfermedad de Burkitt podrían sufrir de la enfermedad de Burkitt. La enfermedad de Burkitt es un tipo de linfoma. Los pacientes con enfermedad de Burkitt podrían sufrir de la enfermedad de Burkitt. Los pacientes con enfermedad de Burkitt podrían sufrir de la enfermedad de Burkitt. Los pacientes con enfermedad de Burkitt podrían sufrir de la enfermedad de Burkitt.

Inmunodeficiencia

Las infecciones intensas que se presentan en las células y en los tejidos de la boca y en los tejidos de la nariz. Las infecciones intensas que se presentan en las células y en los tejidos de la boca y en los tejidos de la nariz. Las infecciones intensas que se presentan en las células y en los tejidos de la boca y en los tejidos de la nariz.

C. Linfoma de Burkitt

El VEB se relaciona con el desarrollo del linfoma de Burkitt (un tumor de la mandíbula en niños africanos y adultos jóvenes). (capítulo 43.) La mayor parte de los tumores africanos (> 90%) contienen DNA de VEB y expresan el antígeno EBNA1. En otras partes del mundo, sólo cerca de 20% de los linfomas de Burkitt contienen DNA de VEB. Se especula que el VEB podría tener participación en la primera etapa del linfoma de Burkitt al inmortalizar células B. La malaria, un cofactor reconocido, podría propiciar el agrandamiento del fondo de células infectadas por VEB. Por último, hay translocaciones cromosómicas características que tienen relación con genes de inmunoglobulina y producen desregulación de la expresión del protooncogén *c-myc*.

D. Carcinoma nasofaríngeo

Este cáncer de células epiteliales es común en varones de origen chino. El DNA de VEB por lo regular se encuentra en células de carcinoma nasofaríngeo, y los pacientes tienen concentraciones altas de anticuerpo para VEB. Se expresan EBNA1 y LMP1. Se cree que los factores genéticos y ambientales son importantes en el desarrollo de carcinoma nasofaríngeo.

E. Enfermedades linfoproliferativas en huéspedes inmunodeficientes

Los pacientes con inmunodeficiencia son susceptibles a enfermedades linfoproliferativas inducidas por VEB que podrían ser fatales. De 1 a 10% de los pacientes con trasplante desarrollan un trastorno linfoproliferativo relacionado con VEB, a menudo cuando experimentan una infección primaria. Éstas podrían ser proliferaciones de células B policlonales que no muestran anormalidades cromosómicas parecidas al linfoma de Burkitt. Es posible la formación de linfomas de células B monoclonales agresivas.

Los pacientes con SIDA son susceptibles a linfomas relacionados con VEB y leucoplasia vellosa bucal de la lengua. Casi todos los linfomas no Hodgkin del sistema nervioso central se relacionan con VEB, mientras que menos de 50% de los linfomas sistémicos son positivos a VEB. Además, al parecer el VEB está relacionado con la enfermedad de Hodgkin clásica, con el genoma viral detectado en células malignas de Reed-Sternberg hasta en 50% de los casos.

Inmunidad

Las infecciones por VEB provocan una respuesta inmune intensa que consiste en anticuerpos contra muchas proteínas específicas del virus, varias respuestas mediadas por células y secreción de linfocinas. La inmunidad mediada por células y las células T citotóxicas son importantes para limitar infecciones primarias y controlar infecciones crónicas.

La prueba serológica para determinar el patrón de anticuerpos específicos a diferentes clases de antígenos de VEB es el medio usual de constatar un estado del paciente con respecto a la infección por VEB.

Diagnóstico de laboratorio

A. Aislamiento e identificación del virus

La hibridación de ácidos nucleicos es el medio más sensible para detectar VEB en materiales del paciente. Las moléculas de RNA de EBER se expresan de forma abundante en células infectadas de forma latente y líticamente, y proporcionan un objetivo de diagnóstico útil para la detección de células infectadas por VEB mediante hibridación. Los antígenos virales se demuestran de forma directa en tejidos linfoides y en carcinomas nasofaríngeos. Durante la fase aguda de la infección, cerca de 1% de los linfocitos circulantes contendrán marcadores de VEB; después de la recuperación de la infección, cerca de un millón de linfocitos B llevarán el virus.

El VEB se puede aislar de la saliva, sangre periférica o tejido linfóide mediante inmortalización de linfocitos humanos normales, obtenidos por lo común de la sangre del cordón umbilical. Este estudio es laborioso y tardado (6 a 8 semanas), requiere instalaciones especiales y pocas veces se lleva a cabo. También es posible cultivar linfocitos B "transformados de forma espontánea" a partir de DNA de VEB o pacientes infectados con el virus. Cualquier agente inmortalizante recuperado se confirma como VEB mediante detección de DNA de VEB o antígenos específicos del virus en linfocitos inmortalizados.

El VEB está presente en la saliva de muchos pacientes inmunosuprimidos. Hasta 20% de los adultos saludables también tienen lavados faríngeos positivos al virus.

B. Serología

Los procedimientos serológicos comunes para la detección de anticuerpos de VEB son pruebas de ELISA, de *immunoblot* y de inmunofluorescencia indirecta con células linfoides positivas a VEB.

El patrón característico de respuestas de anticuerpo a antígenos específicos de VEB después de la infección primaria se ilustra en la figura 33-13. Al inicio de la enfermedad aguda se presenta un aumento transitorio de anticuerpos IgM para el antígeno de la cápside viral, remplazado en semanas por anticuerpos IgG para este antígeno, que persisten de por vida. Poco después, se forman anticuerpos para el antígeno inicial que persisten durante varios meses. Varias semanas después de la infección aguda los anticuerpos para EBNA y el antígeno de membrana surgen y persisten toda la vida.

Se podría usar la prueba menos específica de aglutinación de heterófilos para diagnosticar infecciones por VEB. En el curso de la mononucleosis infecciosa, la mayoría de los pacientes desarrolla anticuerpos heterófilos transitorios que aglutinan células de oveja. Las pruebas rápidas disponibles comercialmente son útiles. Las relaciones antigénicas accidentales hacen posible la especificidad de esta reacción de heterófilo.

C. Interpretación de resultados

Las pruebas serológicas para anticuerpos de VEB requieren cierta interpretación. La presencia de anticuerpo del tipo IgM para el antígeno de la cápside viral es indicativa de infección actual. El anticuerpo del tipo IgG para el antígeno de la cápside viral es un marcador de infección pasada e

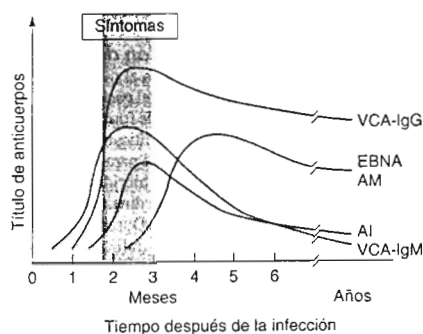


Figura 33-13. Patrón característico de la formación de anticuerpos para antígenos específicos de VEB después de una infección primaria. Los individuos con infección reciente tienen anticuerpos IgM e IgG para el antígeno capsídico viral (VCA-IgM, VCA-IgG); sólo los anticuerpos IgG persisten durante años. Los anticuerpos para los antígenos primarios (EA) se desarrollan en muchos pacientes y persisten durante meses. Varias semanas después de la infección aguda, aparecen y persisten toda la vida anticuerpos para los antígenos relacionados con VEB nuclear (EBNA) y antígenos de membrana (MA). (Modificada con autorización del editor de Straus SE, Smith HA: Cytomegalovirus, varicella-zoster virus, and Epstein-Barr virus. En: *Clinical Virology Manual*. Specter S, Lancz GJ [editores]. Copyright 1986 de Elsevier Science Publishing Co.)

indica inmunidad. Los primeros anticuerpos de antígeno son evidencia de infección viral actual, aunque tales anticuerpos por lo común se encuentran en pacientes con linfoma de Burkitt o carcinoma nasofaríngeo. Los anticuerpos para los antígenos EBNA revelan infección pasada con VEB, aunque la detección de un aumento de anticuerpo anti-EBNA haría pensar en una infección primaria. No todas las personas desarrollan anticuerpo para EBNA.

Epidemiología

El VEB es común en todas partes del mundo, con más de 90% de adultos que son seropositivos. La principal forma de transmisión es por contacto con secreciones bucofaríngeas. En regiones en desarrollo, las infecciones se presentan al comienzo de la vida; más de 90% de los niños están infectados a la edad de seis años. Estas infecciones en la primera infancia se presentan sin ninguna enfermedad reconocible. Las infecciones poco evidentes dan como resultado inmunidad permanente a mononucleosis infecciosa. En países industrializados, más de 50% de las infecciones por VEB se retrasan hasta la adolescencia tardía y principios de la edad adulta. En casi la mitad de los casos, la infección se manifiesta por mononucleosis infecciosa. Hay una estimación de 100 000 casos de mononucleosis infecciosa al año en EUA.

Prevención, tratamiento y control

No hay vacuna disponible para VEB.

El aciclovir reduce la diseminación de VEB desde la bucofaringe durante el período de administración del fármaco, pero no afecta al número de células B inmortalizadas por VEB. El aciclovir no tiene efecto en los síntomas de mononucleosis y no ha mostrado beneficio en el tratamiento de linfomas relacionados con VEB en pacientes inmunocomprometidos.

La transferencia adoptiva de células T reactivas a VEB es promisorio como tratamiento para la enfermedad linfoproliferativa relacionada con VEB.

HERPESVIRUS HUMANO 6

El herpesvirus humano 6 linfotrópico T se reconoció por vez primera en 1986. Los aislamientos iniciales se hicieron de cultivos de células mononucleares plasmáticas periféricas de pacientes con trastornos linfoproliferativos.

Propiedades del virus

El DNA viral tiene un tamaño aproximado de 160 a 170 kpb y una composición promedio de 43 a 44% (G + C). La disposición genética del genoma de herpesvirus humano 6 se asemeja a la del citomegalovirus humano.

Al parecer el herpesvirus humano 6 no tiene relación antigénica con otros herpesvirus humanos conocidos, excepto por cierta reactividad cruzada limitada con herpesvirus humano 7. Los aislados de herpesvirus humano 6 se separan en dos grupos antigénicos distintos pero relacionados de manera estrecha (designados A y B).

El virus crece bien en linfocitos CD4 T. Otros tipos de células también apoyan la replicación viral, entre otras las células B y las células de origen glial, fibroblastoide y megacariocítico. Es posible que las células de la bucofaringe estén infectadas, puesto que el virus está presente en la saliva. Se desconoce qué células del cuerpo se infectan de forma latente. El CD46 humano es el receptor celular para el virus.

Epidemiología y datos clínicos

Los estudios seroepidemiológicos por medio de pruebas de inmunofluorescencia han mostrado que el herpesvirus humano 6 tiene una distribución amplia en la población. Se estima que más de 90% de los niños con más de un año de edad y los adultos son seropositivos.

Por lo común las infecciones con herpesvirus humano 6 se presentan al inicio de la infancia. Esta infección primaria causa exantema súbito (roséola infantil o "sexta enfermedad"), la enfermedad leve es común en la infancia y se caracteriza por fiebre alta y exantema. La variante 6B al parecer es la causa de esta enfermedad. El virus se relaciona con convulsiones febriles en niños.

Las infecciones persisten toda la vida. Las consecuencias de la infección reactivada aún no se determinan. Es

posible que esté involucrada en casos raros de encefalitis en individuos inmunocompetentes e inmunocomprometidos. Al parecer la reactivación es común en pacientes con trasplante y durante el embarazo.

Se supone que el modo de transmisión del herpesvirus humano 6 es por medio de secreciones bucales. El hecho de que sea un agente ubicuo hace pensar que se debe diseminar en el ambiente desde un portador infectado.

HERPESVIRUS HUMANO 7

Un herpesvirus humano linfotrópico T, designado herpesvirus humano 7, se aisló por vez primera en 1990 de células T activadas recuperadas de linfocitos plasmáticos periféricos de un individuo saludable.

El herpesvirus humano 7 es distinto desde el punto de vista inmunológico al herpesvirus humano 6, aunque comparten una homología de cerca de 50% a nivel de DNA.

Al parecer el herpesvirus humano 7 es un agente ubicuo. La mayor parte de las infecciones se presentan en la infancia después de la muy temprana edad de infección observada con el herpesvirus humano 6. Las infecciones persistentes se establecen en las glándulas salivales, y el virus se puede aislar de la saliva de gran parte de los individuos. Todavía falta establecer cualquier relación del herpesvirus humano 7 con la enfermedad.

HERPESVIRUS HUMANO 8

Un herpesvirus nuevo, conocido también como herpesvirus relacionado con sarcoma de Kaposi (VHSK), se detectó por vez primera en 1994 en muestras de sarcoma de Kaposi. El VHSK es linfotrópico y tiene una relación más estrecha con VEB y herpesvirus saimiri que con otros herpesvirus conocidos. El genoma de KSVH (cerca de 165 kpb) contiene diversos genes relacionados con genes reguladores celulares que participan en la proliferación de células, apoptosis y respuestas del huésped (citocina D, citocinas, receptor de quimiocina) que es de suponer contribuye a la patogénesis viral. Este plagio molecular de genes reguladores celulares es una característica notable del virus. El VHSK es la causa de sarcomas de Kaposi, tumores vasculares de composición celular mixta, y está involucrada en la patogénesis de linfomas basados en la cavidad corporal que se presenta en pacientes con SIDA y de la enfermedad de Castleman multicéntrica.

El VHSK no es tan ubicuo como otros herpesvirus: cerca de 5% de la población general en EUA y el norte de Europa tienen evidencia serológica de infección por VHSK. Al parecer se transmite por contacto sexual entre hombres que tienen sexo con hombres, quienes tienen una seroprevalencia mayor (30 a 60%). Las infecciones son comunes en África (> 50%), con infecciones adquiridas al inicio de la vida a través de otras rutas diferentes a la sexual, posiblemente por contacto con secreciones bucales.

El virus se puede transmitir por trasplantes de órganos y pone a los receptores en riesgo de enfermedades relacionadas con VHSK.

El DNA viral se puede detectar en muestras de pacientes por medio de estudios de PCR. El cultivo directo del virus es difícil e impráctico. Se cuenta con pruebas serológicas para medir el anticuerpo persistente para VHSK, por medio de inmunofluorescencia indirecta, *Western-blot* y formatos de ELISA.

El foscarnet, el ganciclovir y el cidofovir tienen actividad contra la replicación de VHSK. La tasa de nuevos sarcomas de Kaposi es muy reducida en pacientes positivos a VIH en terapia antirretroviral efectiva, lo que probablemente refleja la vigilancia inmune reconstituida contra células infectadas por VHSK.

VIRUS B

El virus de herpes B de monos del Viejo Mundo es altamente patogénico para humanos. La capacidad de transmisión del virus a los humanos es limitada, pero las infecciones que se presentan se relacionan con un alto índice de mortalidad (cerca de 60%). La enfermedad por virus B de los humanos es una mielitis ascendente aguda y encefalomielitis.

Propiedades del virus

El virus B es un herpesvirus característico que es nativo en macacos, monos del Viejo Mundo en Asia. El virus B es enzootico en monos *rhesus*, *cynomolgus* y otros macacos (género *Macaca*). Se designa herpesvirus 1 de cercopitecos, que sustituye al viejo nombre de *Herpes simiae*. Su organización genómica es similar al del virus de herpes simple, con muchos genes dispuestos de forma colineal. Su genoma es 75% G + C, el más alto entre los herpesvirus. Al igual que con los herpesvirus, el virus B establece infecciones latentes en huéspedes infectados. El virus crece en cultivos de riñón de mono, riñón de conejo y células humanas con un ciclo de crecimiento corto. Los efectos citopáticos son similares a los del virus de herpes simple.

Patogenia y patología

Las infecciones por virus B pocas veces causan enfermedad en monos *rhesus*. Lesiones vesiculares de la bucofaringe podrían presentarse y se asemejan a las inducidas en humanos por virus de herpes simple. También se presentan lesiones genitales. Muchos monos *rhesus* llevan infecciones latentes por virus B que podrían reactivarse mediante condiciones de estrés.

El virus es transmisible a otros monos, conejos, cobayos, ratas y ratones. Los conejos desarrollan de forma rutinaria infecciones mortales después de la inoculación con virus B.

Las infecciones con virus B en humanos por lo general resultan de una mordedura de mono, aunque también es posible la infección por vía respiratoria u ocular. La característica notable de las infecciones por virus B en humanos es la fuerte propensión a causar enfermedad neurológica. Muchos sobrevivientes quedan con daño neurológico.

Epidemiología y datos clínicos

El virus B se transmite por contacto directo con virus o material contaminado con el virus. La transmisión se presenta entre monos *Macaca*, entre monos y humanos, y rara vez de un humano a otro. El virus puede estar presente en saliva, líquidos conjuntivales y vesiculares, áreas genitales y heces de monos. Es posible la transmisión respiratoria. Otras fuentes de infección son el contacto directo con jaulas de animales y con cultivos de células de monos infectados.

La infección en el huésped natural rara vez se relaciona con la enfermedad evidente. Las infecciones con virus B son muy comunes en colonias de monos *rhesus*. La seroprevalencia en animales adultos es 70% o mayor. Puesto que las infecciones latentes se podrían reactivar, los animales seropositivos son reservorios para la transmisión de infecciones por virus B. La frecuencia de excreción de virus B por monos quizá no es mayor de 3%.

Quienes trabajan con animales y las personas que manejan monos macacos están en riesgo de adquirir infección por virus B. Los individuos que tienen contacto íntimo con personas que están expuestas a los monos también tienen cierto riesgo.

Tratamiento y control

No hay tratamiento específico una vez que se manifiesta la enfermedad clínica. Sin embargo, se recomienda el tratamiento con aciclovir de inmediato después de la exposición. La γ globulina no ha demostrado eficacia en el tratamiento de infecciones por virus B humano. Ninguna vacuna está disponible.

El riesgo de infecciones por virus B se puede reducir mediante procedimientos adecuados en el laboratorio y en el manejo y cuidado de monos macacos. Este riesgo hace de los macacos mascotas no apropiadas.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Un niño de tres años de edad antes saludable presenta una enfermedad viral clásica de la infancia. ¿Cuál de las siguientes infecciones virales primarias de la infancia por lo general es sintomática?
 - Citomegalovirus
 - Virus Epstein-Barr
 - Virus de hepatitis B
 - Virus de varicela zoster
 - Parvovirus B19
- ¿Cuál de los siguientes es un tratamiento recomendado para la infección genital por virus de herpes simple?
 - Aciclovir
 - Vacuna de virus vivo atenuado
 - Inmunoglobulina de herpes
 - Interferón α
 - Ribavirina
- La mayor parte de las infecciones por herpesvirus son endémicas en el ámbito mundial. ¿Cuál de los siguientes virus muestra marcadas diferencias geográficas en seroprevalencia?
 - Citomegalovirus
 - Virus Epstein-Barr
 - Virus de herpes simple tipo 2
 - Herpesvirus relacionado con sarcoma de Kaposi
 - Virus de varicela zoster
- Una estudiante universitaria de 19 años de edad tiene fiebre, ardor de garganta y linfadenopatía acompañada de linfocitosis con células atípicas y un incremento de aglutininas de células de oveja. El diagnóstico más probable es:
 - Hepatitis infecciosa
 - Mononucleosis infecciosa
 - Varicela
 - Infección por herpes simple
 - Meningitis viral
- En un frotis de Tzanck de un frotis de una vesícula de la piel se observan células gigantes multinucleadas. ¿Con cuál de los siguientes virus se relacionan las células gigantes multinucleadas?
 - Virus de herpes simple tipo 2
 - Virus Variola major
 - Virus Coxsackie
 - Molluscum contagiosum*
 - Ninguno de los anteriores
- ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca de los β herpesvirus es cierto?
 - Establecen infecciones latentes y persisten por tiempo indefinido en huéspedes infectados
 - Se reactivan en pacientes inmunocomprometidos
 - La mayor parte de las infecciones son subclínicas
 - Infectan a las células linfoides
 - Todos los anteriores
- Una mujer de 28 años de edad tiene herpes genital recurrente. ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca de las infecciones por herpes genital es cierto?
 - La reactivación del virus latente durante el embarazo no presenta riesgo para el recién nacido
 - No se pueden transmitir en ausencia de lesiones evidentes
 - Los episodios recurrentes debidos a la reactivación del virus latente tienden a ser más graves que la infección primaria.
 - Pueden causarlas los herpesvirus tipos 1 o 2
 - Los virus latentes de herpes simple se encuentran en células dendríticas
- ¿Cuál de los siguientes virus causa un síndrome parecido a la mononucleosis, es una causa común de una infección congénita y se excreta en la orina?
 - Citomegalovirus
 - Virus Epstein-Barr
 - Herpesvirus humano 6
 - Virus de la varicela zoster
 - Virus de herpes simple tipo 2
- Una mujer de 53 años de edad presenta fiebre y signos neurológicos focales. En la imagen de resonancia magnética se observa un lesión del lóbulo temporal izquierdo. ¿Cuál de las siguientes pruebas sería más apropiada para confirmar un diagnóstico de encefalitis por herpes simple en esta paciente?
 - Biopsia de cerebro
 - Frotis de Tzanck
 - Estudio de la reacción en cadena de la polimerasa para DNA viral en líquido cefalorraquídeo
 - Prueba serológica para anticuerpo IgM viral
- ¿Cuál de los siguientes tumores es causado por un virus distinto del de Epstein-Barr?
 - Citomegalovirus
 - Virus Epstein-Barr
 - Virus de herpes simple tipo 2
 - Herpesvirus relacionado con sarcoma de Kaposi
 - Virus de varicela zoster

- A. Linfomas postrasplante
- B. Enfermedad de Hodgkin
- C. Sarcoma de Kaposi
- D. Linfomas no hodgkinianos del sistema nervioso central relacionados con SIDA
- E. Linfoma de Burkitt

Respuestas: 1 = D; 2 = A; 3 = D; 4 = B; 5 = A; 6 = E; 7 = D; 8 = A; 9 = C; 10 = C

REFERENCIAS

- Arvin AM, Gershon AA: Live attenuated varicella vaccine. *Annu Rev Microbiol* 1996;50:59.
- Ashley RL, Wald A: Genital herpes: review of the epidemic and potential use of type-specific serology. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:1.
- Fields BN *et al* (editors): *Herpesviridae*. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Lippincott-Raven, 1996.
- Hengel H, Brune W, Koszinowski UH: Immune evasion by cytomegalovirus—survival strategies of a highly adapted opportunist. *Trends Microbiol* 1998;6:190.
- Huff JL, Barry PA: B-virus (*Cercopithecine herpesvirus 1*) infection in humans and macaques: Potential for zoonotic disease. *Emerging Infect Dis* 2003;9:246.
- Kimberlin DW, Whitley RJ: Human herpesvirus-6: neurologic implications of a newly-described viral pathogen. *J Neurovirol* 1998;4:474.
- Krause PR, Klinman DM: Varicella vaccination: evidence for frequent reactivation of the vaccine strain in healthy children. *Nat Med* 2000;6:451.
- Prevention of varicella. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1996;45(RR-11):1.
- Stanberry LR *et al*: Glycoprotein-D-adjuvant vaccine to prevent genital herpes. *N Engl J Med* 2002;347:1652.

Poxvirus

Los poxvirus son los virus más complejos y de mayor tamaño. Esta familia incluye un vasto grupo de agentes con morfología similar, que comparten un antígeno de nucleoproteína común. Casi todos los poxvirus causan infecciones caracterizadas por exantema, aunque las lesiones inducidas por algunos miembros de la familia son notablemente proliferativas. En este grupo se incluye al virus de la viruela, agente etiológico de la enfermedad que lleva este nombre y que ha afectado a más seres humanos a través de la historia, hasta que se erradicó en 1977.

Aunque se declaró que la viruela había sido erradicada del mundo (en 1980) después de una campaña intensa coordinada por la Organización Mundial de la Salud, hay preocupación de que el virus pudiera ser introducido de nuevo como arma biológica. Todavía es necesario familiarizarse con el virus vaccinia (empleado para inmunización contra viruela) y sus posibles complicaciones en el ser humano. También conviene prevenir otras enfermedades producidas por poxvirus parecidas a la viruela, que deben diferenciarse por estudios en laboratorio. Por último, el virus vaccinia se estudia como vector para introducir genes inmunizantes activos como vacunas de virus vivos contra varias enfermedades virales de humanos y animales domésticos.

PROPIEDADES DE LOS POXVIRUS

En el cuadro 34-1 se presenta una lista de las propiedades importantes de los poxvirus.

Estructura y composición

Los poxvirus son lo bastante grandes para observarse como simples partículas sin características con el microscopio de luz. Con el microscopio electrónico aparecen como partículas elipsoides o en forma de ladrillo que miden casi 400 x 230 nm. Su estructura es compleja y no posee simetría icosaédrica o helicoidal. En la superficie externa de las partículas se observan crestas. Una membrana, o envoltura externa de lipoproteínas, encierra un núcleo y dos estructuras cuya función se desconoce, denominadas cuerpos laterales (figura 34-1).

El núcleo contiene un genoma viral de gran tamaño con DNA lineal de doble cadena (130 a 375 kpb). Se conoce la secuencia genómica completa de varios poxvirus, incluso de los virus de la viruela y la vaccinia. El genoma del virus vaccinia contiene casi 185 marcos de lectura abiertos. El DNA contiene unidades terminales repetidas inversas de longitud variable, y las cadenas se encuentran conectadas en los extremos por asas terminales en horquilla. Las secuencias terminales repetidas inversas pueden incluir regiones codificantes puesto que en ambos extremos del genoma se encuentran algunos genes. El DNA es abundante en bases adenina y timina.

La composición química de un poxvirus recuerda la de una bacteria. El virus vaccinia se compone predominantemente de proteína (90%), lípidos (5%) y DNA (3%). Se han detectado más de 100 polipéptidos estructurales. Algunas de las proteínas están glucosiladas o fosforiladas. El colesterol y los fosfolípidos son los lípidos presentes.

Cuadro 34-1. Propiedades importantes de los poxvirus

- Virión:** estructura compleja, forma oval o de ladrillo, 400 nm de longitud x 230 nm de diámetro; en la superficie externa muestra crestas; contiene un núcleo central y cuerpos laterales
- Composición:** DNA (3%), proteína (90%), lípidos (5%)
- Genoma:** DNA de doble cadena, lineal; tamaño 130 a 375 kpb; posee asas terminales, poco contenido G + C (30 a 40%), excepto en *Parapoxvirus* (63%)
- Proteínas:** los viriones contienen más de 100 polipéptidos; en el núcleo se encuentran muchas enzimas, incluso un sistema de transcripción
- Envoltura:** el ensamblado del virión implica formación de múltiples membranas
- Replicación:** fábricas citoplásmicas
- Características notables:** son los virus más grandes y más complejos; muy resistentes a la inactivación
- Las proteínas codificadas por el virus ayudan a evadir el sistema inmunitario de defensa del huésped
- La viruela fue la primera enfermedad viral erradicada del mundo

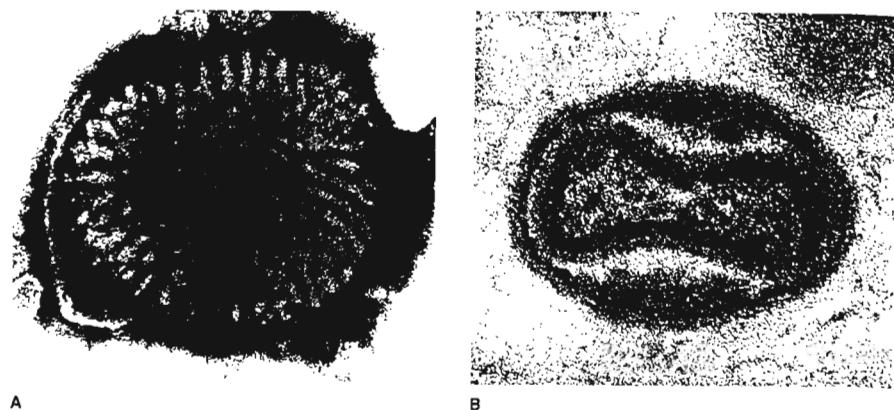


Figura 34-1. Micrografías electrónicas de viriones del virus vaccinia (*Orthopoxvirus*). **A:** partícula teñida negativamente que muestra las canaladuras y los elementos tubulares que cubren la superficie (228 000 x). (Reproducido con autorización de Dales S: J Cell Biol. 1963;18:51.) **B:** corte delgado del virión del virus vaccinia que muestra una estructura central biconcava, dos cuerpos laterales y una membrana externa (220 000 x). (Reproducido con autorización de Pogo BGT, Dales S: Proc Natl Acad Sci USA 1969;63:820.)

El virión contiene múltiples enzimas, las cuales incluyen un sistema de transcripción capaz de sintetizar, poladenilar, coronar y metilar mRNA viral.

Clasificación

Con base en la diversidad de huéspedes vertebrados o de insectos, los poxvirus se dividen en dos subfamilias. Los poxvirus de vertebrados se agrupan en ocho géneros. En un género

determinado los miembros muestran morfología y diversidad de huéspedes similares, y también alguna interrelación antigénica.

La mayor parte de los poxvirus que pueden causar enfermedad en humanos se encuentran en los géneros *Orthopoxvirus* y *Parapoxvirus*; existen también varios poxvirus clasificados en los géneros *Yatapoxvirus* y *Molluscipoxvirus* (cuadro 34-2).

Los ortopoxvirus poseen una amplia variedad de huéspedes y afectan a varios vertebrados. Incluyen los virus ec-

Cuadro 34-2. Poxvirus causantes de enfermedades en humanos

Género	Virus	Huésped primario	Enfermedad
<i>Orthopoxvirus</i>	Viruela	Humanos	Viruela (erradicada en la actualidad)
	Vaccinia	Humanos	Lesiones localizadas; empleada para vacunación contra viruela
	Viruela del búfalo	Búfalo de agua	Infecciones humanas poco comunes; lesiones localizadas
	Viruela de mono	Roedores, monos	Infecciones humanas poco comunes; enfermedad generalizada
	Viruela bovina	Bovinos	Infecciones humanas poco comunes; lesión ulcerante localizada
<i>Parapoxvirus</i>	Orf	Ovinos	Infecciones humanas poco comunes; lesión localizada
	Seudoviruela bovina	Bovinos	
	Estomatitis papular bovina	Bovinos	
<i>Molluscipoxvirus</i>	Molusco contagioso	Humanos	Gran número de nódulos cutáneos benignos
<i>Yatapoxvirus</i>	Tanapox	Monos	Infecciones humanas poco comunes; lesión localizada
	Yabapox	Monos	Infecciones humanas poco comunes y accidentales, tumores cutáneos localizados

tromelia
vina, vir
mos cua
vaccinia
vina en c
po de po
virus de l
y human

Alg
huésped
aves. Otr
la de las
ej., seud

Los
Compara
particula
perficie r
Sus geno
te) y pos
de los or

Tod
antígeno

tromelia (viruela murina), viruela del camello, viruela bovina, viruela del mono, vaccinia y de la viruela. Los últimos cuatro son infectantes para los humanos. El virus vaccinia sólo difiere de los virus de la viruela y viruela bovina en características morfológicas menores. Es el prototipo de poxvirus en términos de estructura y replicación. El virus de la viruela del mono puede infectar a roedores, monos y humanos, así como parecerse clínicamente a la viruela.

Algunos poxvirus tienen una variedad restringida de huéspedes y sólo infectan conejos (fibroma y mixoma) o aves. Otros infectan principalmente ovejas y cabras (viruela de las ovejas, viruela de las cabras) o ganado bovino (p. ej., pseudoviruela bovina o nódulo de los ordeñadores).

Los parapoxvirus son diferentes morfológicamente. Comparados con los ortopoxvirus, los parapoxvirus son partículas un poco más pequeñas (260×160 nm) y su superficie muestra un patrón de rayas cruzadas (figura 34-2). Sus genomas son más pequeños (135 kpb aproximadamente) y poseen un contenido más alto de G + C (63%) que el de los ortopoxvirus (casi 185 kpb; G + C, 30 a 40%).

Todos los poxvirus de los vertebrados comparten un antígeno común de núcleo proteína en la porción interna

del núcleo. Existe reactividad serológica cruzada entre los virus de un género determinado, pero muy poca reactividad cruzada entre los diferentes géneros. En consecuencia, la inmunización con virus vaccinia no confiere protección contra enfermedades inducidas debido a parapoxvirus o poxvirus no clasificados.

Replicación del poxvirus

El ciclo de replicación del virus vaccinia se resume en la figura 34-3. Los poxvirus son peculiares entre los virus de DNA porque todo su ciclo de replicación tiene lugar en el citoplasma de las células infectadas. Sin embargo, es posible que factores nucleares participen en la transcripción y ensamblado del virión. Los poxvirus se distinguen, además de todos los otros virus animales, porque la pérdida de la cubierta requiere una nueva proteína, cuya síntesis está codificada por el virus.

A. Adhesión, penetración y pérdida de la cubierta del virus

Las partículas virales establecen contacto con la superficie de la célula y se fusionan con la membrana celular. A veces, algunas partículas aparecen dentro de vacuolas. El núcleo viral se libera en el citoplasma. Entre varias enzimas de la partícula poxviral, existe una RNA polimerasa viral que transcribe casi la mitad del genoma viral a los mRNA iniciales. Estos mRNA se transcriben dentro del núcleo viral y a continuación se liberan en el citoplasma. Puesto que las enzimas necesarias permanecen en el centro del virus, la transcripción inicial no se afecta por los inhibidores de la síntesis de proteínas. La proteína "de desnudamiento" que actúa sobre el núcleo se encuentra entre más de 50 polipéptidos elaborados tempranamente después de la infección. En la segunda etapa de la pérdida de la cubierta se libera el DNA viral del centro del virus; para esto se requieren RNA y síntesis de proteína. En esta etapa se inhibe la síntesis de macromoléculas de la célula huésped.

Los poxvirus inactivados por calor pueden reactivarse, sea por poxvirus viables o por poxvirus inactivados con mostaza nitrogenada (que inactiva el DNA). Este proceso se denomina **reactivación no genética** y tiene lugar gracias a la acción de las proteínas de desnudamiento. Los virus inactivados por calor no pueden por sí solos iniciar la segunda etapa de la pérdida de la cubierta, debido a la termolabilidad de la RNA polimerasa. Al parecer, los virus muertos por calor suministran la plantilla y el segundo virus proporciona las enzimas necesarias para la transcripción. Cualquier poxvirus de vertebrados puede reactivar a cualquier otro poxvirus de vertebrados.

B. Replicación del DNA viral y síntesis de las proteínas virales

Entre las primeras proteínas elaboradas luego de la infección con el virus vaccinia se encuentran las enzimas participantes en la replicación del DNA, incluso DNA polimerasa y timidina cinasa. El hecho de que la replicación del DNA viral tenga lugar en el citoplasma sugiere que los poxvirus codifican proteínas virales homólogas de muchas de las proteínas celulares requeridas para la replicación. La replicación del DNA viral



Figura 34-2. Micrografía electrónica del virus orf (Parapoxvirus). Nótese el patrón distintivo de líneas entrecruzadas en la superficie del virión (200 000 $\times$). (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

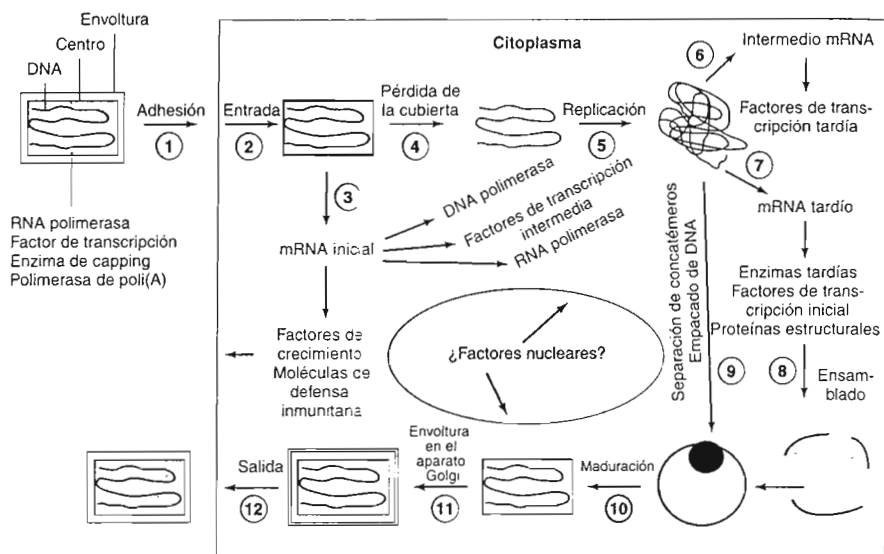


Figura 34-3. Esquema del ciclo de replicación del virus vaccinia. (Reproducido con autorización de Moss B: Poxviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

comienza poco después de la liberación del DNA viral en la segunda etapa de la pérdida de la cubierta. Acontece de 2 a 6 h después de la infección en áreas circunscritas del citoplasma, que parecen "fábricas" o cuerpos de inclusión en las micrografías electrónicas. El número de cuerpos de inclusión por célula es proporcional a la multiplicidad de la infección, lo cual sugiere que cada partícula infectante puede inducir una "fábrica". Entre las células infectadas por poxvirus se observan altas tasas de recombinación homóloga. Esto también se observa en infecciones naturales y se aprovecha experimentalmente para construir y mapear mutantes.

El patrón de expresión del gen viral cambia notablemente con el inicio de la replicación del DNA viral. La síntesis de muchas de las proteínas tempranas se inhibe. Existe una pequeña clase intermedia de genes cuya expresión precede en el tiempo a la expresión de la clase de genes tardíos. Un mRNA viral tardío se traduce en grandes cantidades de proteínas estructurales y pequeñas cantidades de otras proteínas y enzimas del virus.

C. Maduración

El ensamblado de la partícula viral a partir de los componentes elaborados es un proceso complejo. Los poxvirus son peculiares porque, al parecer, hay formación *de novo* de las membranas virales. Los viriones maduros aparecen en las micrografías electrónicas como núcleos de DNA encerrados en una doble membrana rodeada por proteína, y todo incluido entre dos membranas externas. Algunas de las partículas se liberan de la célula mediante gemación, pero la mayor

parte de las partículas del poxvirus permanece dentro de la célula huésped. Cada célula produce casi 10 000 partículas virales. Todavía no se conoce la manera en que los múltiples componentes del sistema de transcripción se incorporan al núcleo de la partícula viral ensamblada.

Un fármaco antiviral afecta la morfogénesis de las partículas del poxvirus. La rifampicina puede bloquear la formación y el ensamblado de la cubierta del virus vaccinia.

D. Genes modificadores

del huésped codificados por el virus

Un polipéptido codificado por uno de los genes tempranos del virus vaccinia está estrechamente relacionado con el factor del crecimiento epidérmico y con el factor y transformante del crecimiento. La producción por parte de las células infectadas con el virus de factores de crecimiento similares al factor del crecimiento epidérmico podría explicar las enfermedades proliferantes relacionadas con los miembros de la familia poxvirus, como el fibroma de Shope, el tumor de Yaba y con los virus del molusco contagioso.

Algunos genes del poxvirus recuerdan los genes de mamíferos codificantes de proteínas inhibitoras de los mecanismos de defensa del huésped. Los ejemplos incluyen receptor para el factor de necrosis tumoral, receptor para interferón, receptor de la IL-1 y una proteína fijadora del complemento. Estos modificadores de las defensas del huésped codificados por el pox virus, presuntamente contra el complemento y las redes de citocina importantes en la res-

puesta inmunitaria del huésped a la infección viral, permiten incrementar la replicación del virus y, quizá, facilitan la transmisión de éste.

INFECCIONES POR POXVIRUS EN HUMANOS: VACCINIA Y VIRUELA

Control y erradicación de la viruela

Durante siglos, la viruela se controló provocando una infección deliberada para producir una variante leve de la enfermedad. Este proceso, denominado variolación, era peligroso pero redujo los efectos desastrosos de las grandes epidemias y disminuyó la tasa de mortalidad de 25 a 1%. En 1798, Jenner introdujo la vacunación con el virus vivo de la viruela de la vaca.

En 1967, la Organización Mundial de la Salud inició una campaña en todo el mundo para erradicar la viruela. Las características epidemiológicas de la enfermedad (descritas adelante) permitieron intentar erradicarla por completo. En aquel entonces había 33 países con viruela endémica y se presentaban de 10 a 15 millones de casos por año. El último caso en Asia se presentó en Bangladesh en 1975, y la última víctima natural se diagnosticó en Somalia en 1977. La viruela fue declarada oficialmente eliminada en 1980. Hubo tres razones principales para este notable éxito: la vacuna fue fácil de preparar, estable y segura; su administración fue sencilla y el personal de campo podía hacerlo; y no fue necesario vacunar masivamente a la población mundial. Todos los casos de viruela fueron seguidos y se vacunó a los contactos del paciente, así como a las personas en el área inmediata.

Aunque no hay evidencia de transmisión de viruela en ninguna parte del mundo, entre 1979 y 1984 la Organización Mundial de la Salud coordinó la investigación de 173 posibles casos de viruela. Todos fueron enfermedades diferentes de ésta, la mayor parte varicela u otras enfermedades eruptivas. Aún así, todo caso sospechoso de viruela significa una urgencia de salud pública y debe investigarse con prontitud por medio de evaluación clínica, recolección de muestras de laboratorio y diagnóstico preliminar de laboratorio.

Las reservas de virus de la viruela virulento en laboratorios son motivo de preocupación, debido al peligro de infección en el laboratorio y de propagación subsecuente a la comunidad. En todos los laboratorios se han destruido los virus de la viruela almacenados, excepto en dos centros que colaboran con la Organización Mundial de la Salud (uno en Atlanta y otro en Moscú) que realizan trabajo de diagnóstico e investigación acerca de los poxvirus relacionados con la viruela. Existe controversia respecto de si deben destruirse estas reservas. Sin embargo, en el decenio de 1990-99 se supo que la antigua Unión Soviética había usado el virus de la viruela en su programa de guerra bacteriológica. Se desconoce cuántos países podrían tener el virus en la actualidad.

Comparación de los virus vaccinia y de la viruela

El virus vaccinia, agente empleado para la vacunación contra la viruela, es una especie distinta de *Orthopoxvirus*. Los

mapas efectuados con endonucleasas de restricción del genoma del virus vaccinia son definitivamente diferentes de los del virus de la viruela de la vaca, tal vez éste es el ancestro. Después que Jenner utilizó originalmente el virus "bovino", en algún momento éste se convirtió en el "virus vaccinia"; se desconocen el momento y las razones del cambio. El virus vaccinia puede ser producto de una recombinación genética, una nueva especie derivada del virus bovino o del virus de la viruela por pasos seriados, o descendiente de algún género viral extinguido en la actualidad.

La viruela tiene una estrecha variedad de huéspedes (sólo humanos y monos), en tanto que el virus vaccinia tiene una extensa variedad de los mismos, que incluye conejos y ratones. Algunas cepas del virus vaccinia pueden causar enfermedad grave en conejos de laboratorio, denominada viruela del conejo. El virus vaccinia también infecta al ganado bovino y al búfalo de agua, y la enfermedad del búfalo persiste en la India (viruela del búfalo). Ambos virus (vaccinia y de la viruela) crecen sobre la membrana corioalantoidea del embrión de pollo de 10 a 12 días de edad, pero el último produce pústulas mucho más pequeñas. Ambos crecen en varios tipos de líneas de células de pollo y de primate.

La secuencia de nucleótidos de los virus de la viruela (186 kb) y vaccinia (192 kb) son similares, la mayor divergencia se observa en la región terminal de los genomas. De 187 presuntas proteínas, 150 fueron notablemente similares en la secuencia de ambos virus; las 37 restantes mostraron divergencias o fueron específicas de viruela y tal vez representan posibles determinantes de virulencia. Las secuencias no revelan el origen del virus de la viruela ni explican su variedad de huéspedes estrictamente limitada al humano, o su particular virulencia.

Patogenia y patología de la viruela

Aunque la viruela se ha erradicado, la patogenia de la enfermedad (descrita aquí en tiempo pasado) es instructiva para otras infecciones por poxvirus. En la figura 30-3 se ilustra la patogenia de la viruela del ratón.

La puerta de ingreso del virus de la viruela fue la mucosa de las vías respiratorias superiores. Después de la entrada del virus se creía que acontecía lo siguiente: 1) multiplicación primaria en el tejido linfático que drenaba el sitio de entrada; 2) viremia transitoria e infección de células reticuloendoteliales a través de todo el cuerpo; 3) una fase de multiplicación secundaria en esas células que conducía a 4) viremia secundaria más intensa, y 5) a enfermedad clínica.

En la fase previa a la erupción, la enfermedad era escasamente infectante. Del sexto al noveno días las lesiones en la boca tendían a producir úlceras y secretar virus. Por tanto, al principio de la enfermedad los virus infectantes se originaban en las lesiones bucales y de las vías respiratorias superiores; más tarde, las pústulas se rompían y liberaban virus en el entorno del paciente con viruela.

El examen histopatológico de la piel revelaba proliferación de la capa de células espinosas. Las células proliferadas contenían muchas inclusiones citoplásmicas. Había infiltración de células mononucleares, en particular alrededor de los

vasos del corion. Las células epiteliales de la capa de Malpighio se hinchaban por distensión del citoplasma y sufrían "degeneración edematosa". Las vacuolas en el citoplasma aumentaban de tamaño. La membrana celular se rompía y se reunía con células vecinas afectadas de manera similar; como resultado se formaban vesículas, que aumentaban de tamaño y se llenaban de leucocitos y restos de tejido. Todas las capas de la piel estaban afectadas y había verdadera necrosis del corion. Por tanto, la infección por viruela dejaba cicatrices. En la vacinia se observa un cuadro histopatológico similar, aunque ordinariamente el virus vaccinia causa lesiones pustulares localizadas en el sitio de inoculación.

Datos clínicos

El periodo de incubación de la viruela era de casi 10 a 14 días. El inicio generalmente era súbito. De 1 a 5 días de fiebre y malestar general preceden a la aparición de exantemas, que comienzan como máculas, luego pápulas, después vesículas y, por último, pústulas. Estas forman costras que se desprenden después de dos semanas, dejando cicatrices rosas que se desvanecen con lentitud. En cada región afectada las lesiones generalmente se observaban en la misma etapa de desarrollo (contrario a la varicela).

La Organización Mundial de la Salud preparó una "Cartilla para identificar la viruela" que muestra la erup-

ción típica (figura 34-4). Las lesiones eran más abundantes en cara y menos sobre el tronco. En casos graves, la erupción era hemorrágica. La tasa de mortalidad variaba de 5 a 40%. En la viruela leve, denominada viruela menor, o en las personas vacunadas, la tasa de mortalidad fue menor de 1%.

Inmunidad

Todos los virus del género *Orthopoxvirus* mantienen una relación antigénica tan estrecha que no es fácil diferenciarlos serológicamente. La infección con uno induce una respuesta inmunitaria que reacciona con todos los otros miembros del grupo.

Un ataque de viruela confiere protección completa contra la reinfección. La vacunación con virus vaccinia induce inmunidad contra el virus de la viruela al menos durante cinco años y a veces más. Los anticuerpos no bastan por sí mismos para que la persona se recupere de una infección primaria por pox virus. En el huésped humano se desarrollan anticuerpos neutralizantes pocos días después de iniciada la viruela, pero no impiden el avance de las lesiones, y los pacientes pueden morir en la etapa pustular con concentraciones altas de anticuerpos. La inmunidad mediada por células probablemente es más importante que los anticuerpos circulantes. Los pacientes con hipogammaglobulinemia en general reaccionan normalmente a la vacunación y desarrollan inmunidad a



CARTILLA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LA VIRUELA

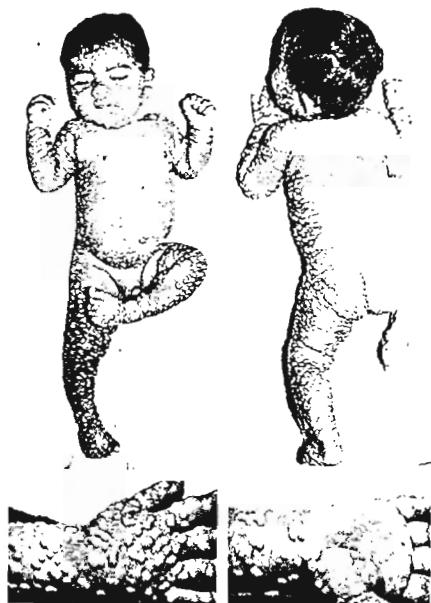


Figura 34-4. Erupción por viruela. "Cartilla para la identificación de la viruela" de la Organización Mundial de la Salud, ilustra la distribución y naturaleza de la típica erupción de la viruela en un niño no vacunado. (Cortesía de F Fenner y la Organización Mundial de la Salud.)

pesar de una ausencia aparente de anticuerpos. Los pacientes con respuestas inmunitarias celular y de anticuerpos deficientes desarrollan una enfermedad progresiva, generalmente mortal, después de la vacunación.

La producción de interferón (véase capítulo 30) es otro posible mecanismo inmunitario. Los animales irradiados sin anticuerpos detectables o sin hipersensibilidad retardada se recuperan de la infección por virus vaccinia con la misma rapidez que los animales control no tratados.

Diagnóstico de laboratorio

Se dispone de varias pruebas para confirmar el diagnóstico de viruela. Ahora que la enfermedad está presuntamente erradicada, es importante diagnosticar todo caso parecido a viruela. Las pruebas dependen del examen microscópico directo del material procedente de las lesiones cutáneas, recuperación del virus del paciente, identificación del antígeno viral en la región de la lesión y, de menor importancia, la demostración de anticuerpos en la sangre.

A. Aislamiento e identificación del virus

La muestra preferida para aislar el virus es el material de las lesiones cutáneas. Los poxvirus son estables y se mantienen viables en las muestras durante semanas, incluso sin refrigeración.

El examen directo del material clínico con microscopio electrónico permite identificar con rapidez las partículas virales (en 1 h aproximadamente) y diferenciar con facilidad entre una infección por poxvirus y una de varicela (esta última causada por un herpesvirus). Mediante microscopía electrónica no es posible distinguir un ortopoxvirus de otro, puesto que son similares en tamaño y morfología. No obstante, es posible diferenciarlos con facilidad de los tanapoxvirus y parapoxvirus.

El aislamiento de los virus se lleva a cabo mediante inoculación de líquido vesicular en la membrana corioalantoidea del embrión de pollo. Ésta es la prueba de laboratorio más confiable y es la manera más fácil de diferenciar entre viruela y vaccinia generalizada, puesto que las lesiones producidas por estos virus sobre la membrana difieren notablemente. En 2 a 3 días, las pústulas por vaccinia son de mayor tamaño con centro necrosado, en tanto que las pústulas por viruela son mucho más pequeñas. La viruela bovina y la viruela simiana producen lesiones hemorrágicas distintivas. Los parapoxvirus, los virus del molusco contagioso y los tanapoxvirus no crecen en esta membrana.

También se pueden emplear cultivos de células para aislar el virus. Las células de primates homínidos y no homínidos son más susceptibles. Los ortopoxvirus crecen bien en células cultivadas; parapoxvirus y tanapoxvirus tienen un desarrollo menor, y el virus del molusco contagioso no puede crecer en cultivo de células.

Se pueden detectar antígenos virales mediante precipitación en gel de agar del material recolectado en las lesiones cutáneas. Esta prueba identifica a los ortopoxvirus como grupo. Cuando no se dispone de microscopio electrónico es una buena alternativa. Están disponibles pruebas de reacción en cadena de polimerasa (PCR) específicas para muchos poxvirus y se pueden emplear para fines de detección e identificación.

B. Serología

Para identificar con rapidez y precisión la infección por poxvirus es necesario aislar el virus. Sin embargo, se pueden practicar análisis con anticuerpos para confirmar el diagnóstico. Los anticuerpos aparecen después de la primera semana de infección y pueden detectarse mediante IH, NI, ELISA, RIA o pruebas de inmunofluorescencia. Ninguna de estas pruebas puede distinguir entre los diferentes ortopoxvirus.

Diagnóstico diferencial

La viruela puede confundirse con varicela, acné pustular, meningococcemia, sífilis secundaria, erupción medicamentosa y otras enfermedades acompañadas de erupción cutánea, pero ninguna de estas enfermedades produce materiales que den resultados positivos en las pruebas de laboratorio para poxvirus.

El uso de la PCR, o el corte del DNA viral mediante enzimas de restricción y el análisis de polipéptidos en células infectadas por poxvirus pueden mostrar características distintas para viruela, vaccinia, viruela simiana y viruela bovina. Esto es importante, puesto que debe identificarse toda enfermedad parecida a viruela para asegurar que en realidad la viruela está erradicada.

Tratamiento

La inmunoglobulina vaccinia se prepara de sangre de personas vacunadas con el virus. Se recomienda para tratamiento de todas las complicaciones, excepto de la encefalitis posvacunal. Desde el año 2003, las reservas de inmunoglobulina vacunal estuvieron muy limitadas y disponibles sólo en los *Centers for Disease Control and Prevention*.

El único agente quimioterapéutico con algún valor contra los poxvirus es la metisazona. Es eficaz como profiláctico, pero inútil en el tratamiento de la enfermedad ya establecida. El cidofovir muestra actividad contra poxvirus *in vitro*.

Epidemiología

La transmisión de viruela por lo general pudo rastrearse hasta los contactos entre los casos. La viruela era muy contagiosa. El virus era estable en el ambiente extracelular, pero más comúnmente se transmitía por propagación a través de las vías respiratorias. Los virus secos sobrevivían en las costras de las lesiones cutáneas, en la ropa y en otros materiales y producían infecciones.

Los pacientes fueron altamente infecciosos durante la primera semana de exantema una vez que había comenzado la fiebre. Las minúsculas gotas de las secreciones respiratorias eran infectantes antes que las lesiones cutáneas.

La erradicación total de la viruela fue posible gracias a las siguientes características epidemiológicas: no existe reservorio no humano conocido. Sólo hay un serotipo estable. Se cuenta con una vacuna eficaz. No se presentan casos subclínicos infectantes. Tampoco existen portadores crónicos asintomáticos del virus. Puesto que los virus presentes en el entorno del paciente provenían de las lesiones en boca

y faringe (y más tarde de piel), los pacientes con infección lo bastante grave para transmitir la enfermedad recibieron atención médica con prontitud. El requisito de contacto estrecho para una propagación eficaz de la enfermedad generalmente hace más fácil identificar los contactos del paciente, de modo que pudieron instituirse medidas específicas de control para interrumpir el ciclo de transmisión.

La Organización Mundial de la Salud logró erradicar la viruela con el empleo de un programa de vigilancia-contención. Se determinó el origen de cada brote y todos los contactos susceptibles fueron identificados y vacunados.

Vacunación con el virus vaccinia

El virus vaccinia para vacunación se prepara a partir de lesiones vesiculares ("linfa") producidas en la piel de bovinos u ovinos, o puede crecer en embriones de pollo. El producto final contiene 40% de glicerol para estabilizar el virus y 0.4% de fenol para destruir bacterias. Las normas de la Organización Mundial de la Salud requieren que las vacunas contra la viruela tengan una potencia no menor de 10^8 unidades formadoras de pústulas por mililitro. Está en desarrollo una nueva vacuna producida de cultivo de células. La vacuna vaccinia no contiene virus de viruela (variola).

El éxito de la erradicación de la viruela significó que ya no se recomendaba más la vacunación sistemática. En EUA la vacunación rutinaria de niños contra la viruela se interrumpió en 1971. Por consiguiente, los que nacieron a partir de 1972 son susceptibles a la infección. Preocupaciones recientes acerca de un posible ataque terrorista con viruela han dado como resultado recomendaciones para el uso de la vacuna de viruela a una escala limitada (p. ej., comenzar con los trabajadores del cuidado de la salud). El siguiente resumen acerca de vacunación se proporciona debido a que el virus vaccinia está en consideración como vector para introducir genes extraños con propósitos inmunizadores.

A. Edad para vacunación

Las complicaciones de la vacunación (véase después) se presentan más comúnmente en niños menores de un año. Por tanto, es preferible aplicar la vacuna entre 1 y 2 años de edad que en el primer año de vida. La revacunación se practica con intervalos de tres años.

B. Reacciones e interpretación

- 1. Vacunación primaria:** en las personas totalmente susceptibles, al tercero o cuarto día aparece una pápula rodeada de una zona hiperémica. La pápula aumenta de tamaño hasta presentar vesiculación (quinto o sexto días). La vesícula alcanza su máximo tamaño al noveno día y después se torna pustular. A continuación comienza a secarse y en unas dos semanas la desecación es completa para dejar una escara hundida de color rosa que finalmente se vuelve blanca. La lectura del resultado en general se practica el séptimo día. Se considera que una persona está protegida por completo después de que se presenta una respuesta vesicular o pustular en torno a una lesión central (costra o úlcera). Si no se observa esta reacción debe repetirse la vacunación.
- 2. Revacunación:** la revacunación satisfactoria muestra una lesión vesicular o pustular en 6 a 8 días o un área palpable de induración que rodea una lesión central, la cual puede ser una costra o úlcera. Sólo esta reacción indica con certeza que hubo multiplicación del virus. Reacciones dudosas a veces significan inmunidad, pero también pueden representar únicamente reacciones alérgicas a una vacuna ya inactiva. Cuando tiene lugar una reacción dudosa debe repetirse la vacunación con utilización de un nuevo lote de vacuna.

C. Complicaciones de la vacunación

La vacunación contra la viruela se relaciona con un riesgo cuantificable definido. En EUA, el riesgo de muerte por todas las complicaciones fue de 1 por millón para la vacunación primaria y de 0.6 por millón para la revacunación. En niños menores de un año de edad el riesgo de muerte fue de cinco por millón en la vacunación primaria. Entre las vacunas primarias, la incidencia combinada de encefalitis posvacunal y necrosis por vacuna fue de 3.8 por millón en personas de todas las edades. En las revacunaciones estas dos complicaciones se presentaban con una tasa de 0.7 por millón. Las complicaciones graves de la vacuna se presentaron concomitantes con inmunodeficiencia, inmunosupresión, enfermedades malignas hemáticas o de otros tipos y embarazo. Esas condiciones son contraindicaciones para el uso de la vacuna vaccinia, así como eczema, alergia al componente de la vacuna y vivir en un hogar con alguien que tiene una contraindicación para la vacuna.

- 1. Inoculación accidental:** ésta se presenta cuando se infecta una parte del cuerpo distante del sitio de inoculación. Ésta es la complicación más común, que tiene lugar cerca de 25 veces por millón. La vacuna ocular era el problema más frecuente y algunas veces dio como resultado defectos visuales.
- 2. Vaccinia generalizada:** se manifiesta por aparición de racimos de lesiones vacinales sobre la superficie del cuerpo (23 casos por millón). Los niños con eccema pueden desarrollar lesiones vacinales sobre las áreas eczematosas (eccema vacinal) después de la vacunación. Los niños con eccema no deben vacunarse. En la vacuna generalizada sin tratamiento la tasa de mortalidad es de 30 a 40%. La dermatitis atópica es un factor de riesgo para el *eccema vaccinatum*. La vaccinia generalizada puede aparecer en ausencia de eccema, pero esto es raro.
- 3. Encefalitis posvacunal:** la tasa de mortalidad de esta grave complicación puede ser hasta de 40%. En EUA la incidencia fue de tres por millón para la vacunación primaria en todos los grupos de edad. El inicio es súbito y tiene lugar casi 12 días después de la vacunación. No está claro cuál es la causa.
- 4. Vacuna progresiva o vaccinia necrosum:** esto resulta de la incapacidad para elaborar el anticuerpo o desarrollar resistencia celular y suele ser fatal. La incidencia de enfermedad en EUA fue cercana a uno por millón. El tratamiento con inmunoglobulina antivacuina o metisazona puede ser útil. La inmunodeficiencia congénita o adquirida y la inmunosupresión son contraindicaciones para la vacunación.

5. **Vacuna fetal:** muy raras veces una mujer vacunada al final del embarazo puede transmitir el virus vaccinia al feto y producir la muerte del mismo. Por tanto, durante el embarazo debe evitarse la vacunación.

INFECCIONES POR VIRUELA DE MONO

El virus de la viruela de mono es una especie de *Orthopoxvirus*. La enfermedad se identificó por primera vez en 1958 en monos cautivos. A principios del decenio de 1970-79 se descubrieron infecciones en humanos con este virus en África Oriental y Central, después que la viruela se había erradicado en esa región.

La enfermedad es una zoonosis poco común que sólo se ha detectado en poblados remotos en las selvas tropicales, en particular en la República Democrática del Congo. Es probable que se adquiere por contacto directo con animales salvajes cazados para alimento y con la piel de dichos animales. Se desconoce el huésped reservorio primario, pero puede ser la ardilla. Los roedores también pueden infectarse.

Las características clínicas de la viruela simiana en humanos se establecieron con base en el examen de 282 pacientes infectados en Zaire de 1980 a 1985. Los pacientes fueron de todas las edades, pero la mayoría (90%) eran menores de 15 años. Los síntomas clínicos son similares a los de las variantes ordinaria y modificada de viruela. En algunos pacientes se observaron "racimos" de lesiones eruptivas, lo cual planteó un problema diagnóstico con la varicela. En la mayoría de los pacientes se encontró linfadenopatía importante, característica no observada en la viruela o en la varicela.

Las complicaciones fueron comunes y con frecuencia graves. En general fueron insuficiencia respiratoria e infecciones bacterianas secundarias. En pacientes no vacunados la tasa de mortalidad es de casi 11%. La vacunación con el virus vaccinia protege contra el virus simiano o reduce la gravedad de la enfermedad.

En general, se cree que la infección por la viruela simiana en el humano no es fácil de transmitir de una persona a otra. Estimaciones previas consideran que sólo 15% de los contactos susceptibles en la familia contraen la viruela simiana a partir del paciente. Sin embargo, un brote en Zaire en 1996 y 1997 sugirió un potencial mayor de transmisión de persona a persona.

El primer brote de viruela de mono en el hemisferio occidental tuvo lugar en EUA en 2003. Se diagnosticaron más de 80 casos humanos (sin muertes), sobre todo en estados de la región central. La fuente fue una tienda de mascotas exóticas en Illinois, en la cual al parecer una rata africana importada diseminó el virus a los perros de las praderas y éstos la transmitieron a los humanos.

INFECCIONES POR VIRUELA BOVINA

Los virus de la viruela bovina constituyen otra especie de *Orthopoxvirus*. Esta enfermedad del ganado es más leve

que las enfermedades pustulosas de otros animales, las lesiones se confinan a tetillas y ubres (figura 34-5A). La infección ocurre en el ser humano por contacto directo durante la ordeña y las lesiones en ordeñadores se limitan casi siempre a las manos (figura 34-5D). La enfermedad es más grave en personas no vacunadas, en comparación con las vacunadas con el virus vaccinia. La lesión local se acompaña de fiebre y linfadenitis.

Inmunológicamente, y en cuanto a la variedad de huéspedes, el virus bovino es similar al virus vaccinia. También está muy relacionado, desde el punto de vista inmunitario, con el virus de la viruela. Jenner observó que quienes habían sufrido viruela bovina eran inmunes a la viruela. El virus bovino puede distinguirse del virus vaccinia por la profundidad de las lesiones hemorrágicas eritematosas que produce el virus bovino sobre la membrana corioalantoides del embrión de pollo.

El reservorio natural del virus bovino parece ser un roedor y tanto el ganado como los humanos sólo son huéspedes accidentales. Los gatos domésticos también son susceptibles al virus bovino. En el Reino Unido se han informado más de 50 casos en felinos, pero se cree que la transmisión del gato al ser humano es poco común. La viruela bovina ya no es enzootica en el ganado, aunque en ocasiones se presentan casos en humanos relacionados con casos bovinos. La viruela bovina es esporádica en felinos, y la transmisión probablemente tiene lugar a partir de un pequeño roedor salvaje en el que se incluye el ratón de campo. Pueden aparecer casos humanos (con lesiones cutáneas hemorrágicas, fiebre y malestar general) en ausencia de contacto alguno conocido con un animal y no se puede establecer un diagnóstico. No hay tratamiento.

INFECCIONES POR LA VIRUELA DEL BÚFALO

El virus de la viruela del búfalo es un derivado del virus vaccinia que ha persistido en el búfalo de agua de la India desde la interrupción de la vacunación contra viruela. La enfermedad en el búfalo, y en ocasiones en el ganado vacuno, es indistinguible de la viruela bovina. La viruela del búfalo puede transmitirse al humano con lesiones pustulosas localizadas. Existe cierta preocupación acerca de la posibilidad de transmisión humano-humano.

INFECCIONES POR VIRUS ORF

El virus orf es una especie de *Parapoxvirus* prevalente en todo el mundo (figura 34-5C), que causa enfermedad en ovejas y cabras. Esta enfermedad también se denomina dermatitis pustular contagiosa o úlcera bucal.

El virus orf se transmite a los humanos por contacto directo con un animal infectado. Es una enfermedad ocasional de los pastores de ovejas. La infección en los humanos generalmente se presenta como una lesión simple sobre un dedo, la mano o el antebrazo (figura 34-5F), pero puede aparecer sobre la cara o el cuello. Las lesiones son nódulos

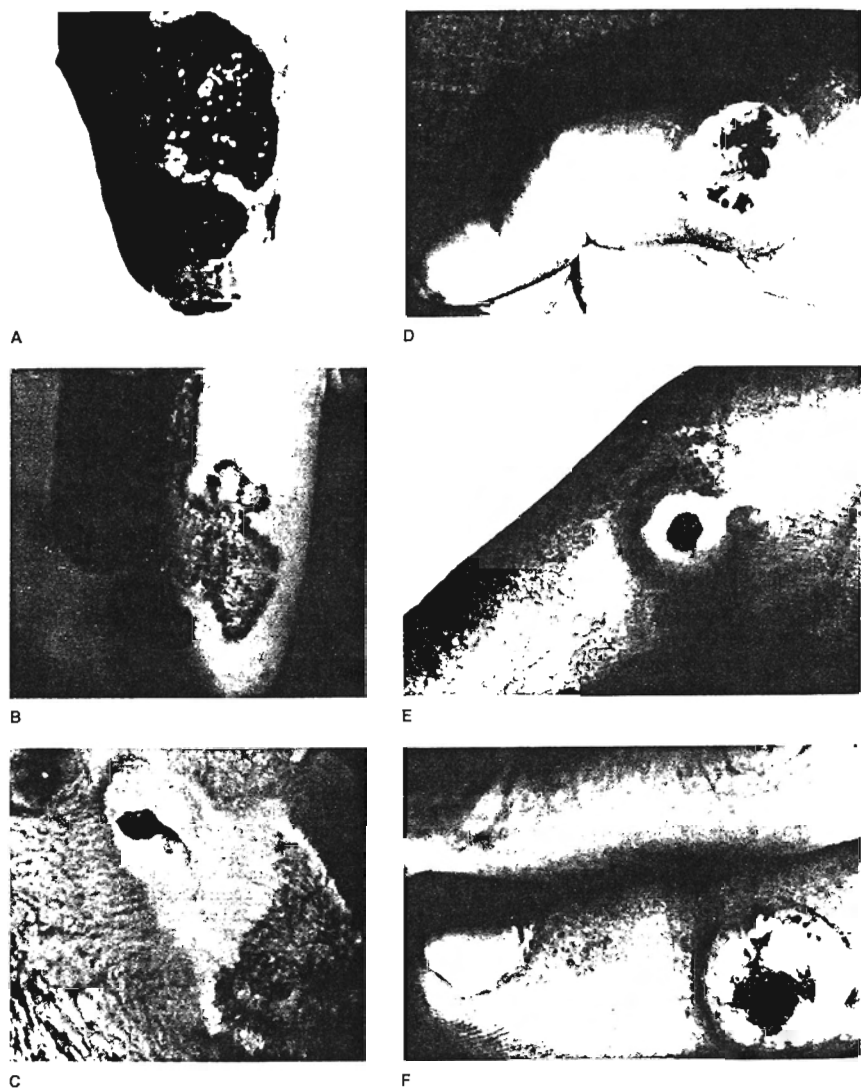


Figura 34-5. Viruela bovina, pseudoviruela bovina e infección orf en animales y humanos. **A:** úlcera por viruela bovina sobre la tetilla de una vaca siete días después del inicio de los signos. **B:** pseudoviruela bovina (virus del nódulo de los ordeñadores) sobre la tetilla de una vaca. **C:** lesión costrosa en la boca de un cordero causada por virus orf. **D, E, F:** lesiones en la mano causadas por estos virus. **D:** viruela bovina. **E:** nódulo del ordeñador (pseudoviruela bovina). **F:** Orf. (**A** y **B** cortesía de EPJ Gibbs; **C** cortesía de A Robinson; **D** cortesía de AD McNae; **E** y **F** cortesía de J Nagington. Reproducido de Fenner F Poxviruses. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN *et al.* [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

grande
Rara v
toma v

MOL

El mol
se pres
relació
causal
cipoxv
N
en cult
diente
o en fo
virus v
ción cr

El
pecto a
les inve
Se ha s
contagi
nos 16.
recen a
gran nu
rencias
del mo

La
ños de
espalda
palmas
todo el
mica, y
ga por
común

Ca
so com

grandes, más bien dolorosos, rodeados de piel inflamada. Rara vez la infección se generaliza. La cicatrización a veces toma varias semanas.

MOLUSCO CONTAGIOSO

El molusco contagioso es un tumor epidérmico benigno que se presenta sólo en humanos (aunque existe evidencia de su relación cercana con un virus que infecta caballos). El agente causal se clasifica como miembro único del género *Molluscipoxvirus*.

No se ha transmitido el virus a los animales y no crece en cultivo de tejidos. En lesiones humanas se estudió mediante microscopía electrónica. El virus purificado es oval o en forma de ladrillo y mide 230×330 nm. Recuerda al virus vaccinia. Los anticuerpos al virus no producen reacción cruzada con ningún otro poxvirus.

El DNA viral se asemeja al del virus vaccinia con respecto a enlaces cruzados terminales y repeticiones terminales invertidas. Posee un contenido total G + C de casi 60%. Se ha secuenciado el genoma íntegro del virus del molusco contagioso (aproximadamente 190 kpb). Contiene al menos 163 genes, casi dos tercios partes de los cuales se parecen a los genes de los virus de la viruela y el bovino. El gran número de genes no similares puede explicar las diferencias entre la enfermedad humana producida por el virus del molusco contagioso y el virus de la viruela.

Las lesiones de esta enfermedad son tumores pequeños de color rosa, semejantes a verrugas sobre cara, brazos, espalda y glúteos (figura 34-6). Rara vez se observa en las palmas, plantas o mucosas. La enfermedad se encuentra en todo el mundo, tanto en su variante esporádica como epidémica, y es más frecuente en niños que en adultos. Se propaga por contacto directo e indirecto (p. ej., barberos, empleo común de toallas, piscinas de natación).

Cada vez es mayor la incidencia del molusco contagioso como enfermedad transmitida por vía sexual en adultos

jóvenes. También se observa en algunos pacientes con SIDA. La piel de los pacientes con SIDA terminal a veces se cubre de abundantes pápulas. Aunque las lesiones típicas son pápulas umbilicadas, en las áreas genitales húmedas las lesiones pueden estar inflamadas o ulceradas y a veces se confunden con las producidas por el virus del herpes simple (VHS). Muestras de estas lesiones se envían con frecuencia al laboratorio de diagnóstico viral para aislar VHS (véase después).

El periodo de incubación puede extenderse hasta seis meses. A veces, las lesiones pueden ser pruriginosas y ocasionan autoinoculación. Estas lesiones pueden persistir hasta dos años, pero con el tiempo regresan espontáneamente. El virus es poco inmunogénico; casi una tercera parte de los pacientes nunca produce anticuerpos contra el virus. Son comunes los segundos ataques.

Aunque el virus del molusco contagioso no se propaga seriamente en cultivo de células, puede infectar células humanas y de primates, y causar infección abortiva. Hay pérdida de la cubierta para producir núcleos centrales seguida por un efecto citopático transitorio característico. Los cambios celulares pueden tomarse erróneamente por los producidos por el VHS; así, los virus aislados de muestras bajo sospecha de contener VHS deben identificarse específicamente. En un estudio efectuado en 1985 de 137 muestras cultivadas para VHS con el empleo de células de fibroblastos humanos, 49 contenían VHS; otras seis produjeron efectos citopáticos, pero fueron negativas para antígenos VHS. El microscopio electrónico confirmó la presencia del virus del molusco contagioso en las muestras negativas para VHS, pero positivas para el efecto citopático.

El diagnóstico del molusco contagioso casi siempre se puede establecer clínicamente. Sin embargo, se puede exprimir un material caseoso semisólido de las lesiones y emplearlo para diagnóstico por laboratorio. La PCR tiene la capacidad para detectar secuencias de DNA viral, y la microscopía electrónica puede detectar partículas poxvirus.

INFECCIONES POR POXVIRUS TANAPOX Y YABAPOX DEL TUMOR DEL MONO

Las infecciones cutáneas por tanapox son bastante comunes en ciertas partes de África, principalmente en Kenia y la República Democrática del Congo. Su huésped natural probablemente es el mono, aunque es posible que exista otro reservorio y que los monos sólo sean huéspedes incidentales. Se desconoce el modo de transmisión.

Los virus del tumor simiano tanapox y yabapox se relacionan serológicamente entre sí, pero son distintos de todos los otros poxvirus. Se clasifican en el género *Yatapoxvirus*. Morfológicamente son similares a los ortopoxvirus. El genoma del virus tanapox tiene 160 kpb de tamaño, en tanto que el poxvirus yabapox del tumor de mono es más pequeño (145 kpb; 32.5% G + C). Los virus sólo crecen en cultivo de células de mono y de humano, y producen efectos citopáticos. No crecen sobre la membrana corioalantoides de huevos embrionados.

El tanapox comienza con un periodo febril de 3 a 4 días y puede incluir cefalea intensa y postración. En general

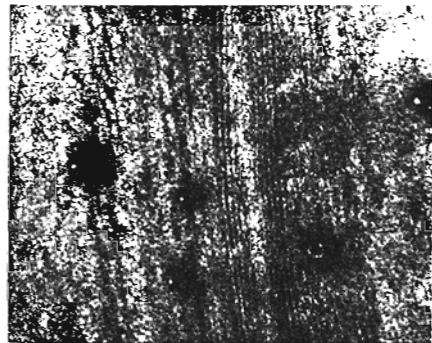
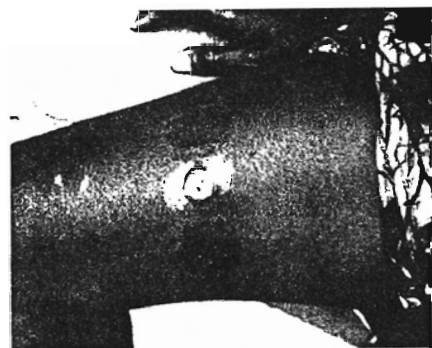


Figura 34-6. Lesiones de molusco contagioso en humanos. (Cortesía de D. Lowy.) (Reproducido de Fenner F: *Poxviruses*. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors] Lippincott-Raven, 1996.)



A



B

Figura 34-7. Lesiones producidas por el virus tanapox. **A:** 10 días después de la aparición de la lesión inicial. **B:** 31 días después de la aparición de la lesión. (Cortesía de Z Jezek. Reproducido de Fenner F: Poxviruses. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

sólo hay 1 o 2 lesiones cutáneas; nunca hay pústulas (figura 34-7). La cicatrización a veces toma de 4 a 7 semanas.

El poxvirus yabapox del tumor de mono causa histiocitomas benignos 5 a 20 días después de la administración subcutánea o intramuscular al mono. Los tumores remiten después de casi cinco semanas. La administración intravenosa del virus produce la aparición de múltiples histiocitomas en pulmones, corazón y músculo esquelético. No hay verdaderos cambios neoplásicos. El virus es fácil de aislar del tejido tumoral, y se encuentran inclusiones características en las células del tumor. Los monos de varias especies y los humanos son susceptibles al efecto proliferativo celular del virus, pero otros animales de laboratorio no lo son. Aunque las personas que manejan animales pueden infectarse, las infecciones en humanos por virus yaba no se observan naturalmente en África.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Un trabajador de servicios de urgencia de 40 años de edad está considerando la vacunación contra la viruela debido a la posibilidad de bioterrorismo. Investiga acerca de la vacuna y encuentra que la reacción secundaria o complicación más común después de la aplicación de la vacuna vaccinia (viruela) es:
 - Vaccinia generalizada
 - Eccema vaccinatum
 - Vaccinia progresiva
 - Reacción alérgica grave
 - Inoculación accidental
- El trabajador de los servicios de urgencia de la pregunta 1 también aprende acerca de las contraindicaciones para la vacuna contra la viruela. ¿Cuál de las siguientes condiciones no es una contraindicación para el uso de vacuna vacunal (viruela) en condiciones normales?
 - Inmunosupresión
 - Alergia grave a un componente de la vacuna
 - Contacto en el hogar con una persona con eccema
 - Embarazo
 - Todas las anteriores son contraindicaciones
- ¿Cuál de los siguientes poxvirus infecta sólo a los humanos?
 - Viruela del mono
 - Molusco contagioso
 - Tanapox
 - Viruela bovina
 - Virus tumoral de yaba
- Un niño de siete años de edad tiene lesiones parecidas a las de una enfermedad eruptiva en mano y brazo izquierdos. El niño tiene un roedor importado de África occidental como mascota. Se diagnostica viruela de simio en el niño y en el roedor. ¿Cuál de las siguientes declaraciones acerca del virus de la viruela de simio es más correcta?
 - La enfermedad clínica se asemeja a la viruela
 - Las infecciones humanas nunca son fatales
 - La vacunación contra la viruela no es protectora
 - Las infecciones se transmiten con facilidad entre miembros de la familia
 - Las partículas de virus se pueden distinguir de los virus de viruela mediante microscopio electrónico
- ¿Cuál es la mejor descripción de la vacuna vaccinia (viruela) autorizada en la actualidad?
 - Virus de viruela vivo atenuado
 - Virus de viruela inactivado
 - Virus de vaccinia viva
 - Virus de vaccinia inactivado
 - Vacuna reasortante que contiene tanto virus de vaccinia como de viruela
- ¿Cuál de los siguientes enunciados no aplica a la duplicación de virus de vaccinia en células cultivadas?
 - El ciclo de duplicación viral se lleva a cabo en el citoplasma de células infectadas
 - El paso de eliminación de la cubierta que conduce a la liberación del genoma viral requiere una proteína viral recientemente sintetizada
 - La transcripción temprana de más de 50 genes virales se presenta dentro de núcleos virales y precede a la duplicación de DNA viral
 - Las partículas de virus recién formadas maduran por gemación a través de la membrana nuclear
- Una enfermera de la sala de urgencias, de 37 años de edad, es vacunada contra la viruela debido a una amenaza de bioterrorismo; 12 días después, presenta una

complicación mayor a partir de la vacuna. Se considera el tratamiento con inmunoglobulina vacunal. ¿Para cuál de las siguientes condiciones el tratamiento con inmunoglobulina vacunal no trae ningún beneficio?:

- A. Vaccinia generalizada grave
 - B. Vaccinia progresiva
 - C. Encefalitis posvacunal
 - D. Eccema vacunal
 - E. Vaccinia ocular
8. Otra enfermera de la misma sala de urgencias, como la paciente de la pregunta 7, también recibe la vacuna contra la viruela. ¿En qué punto se considera que la paciente está protegida por completo de la viruela?:

- A. Diez días después de la primera dosis de vacuna, sin importar la respuesta en el sitio de administración
- B. Diez días después de la segunda dosis de vacuna, sin importar la respuesta en el sitio de administración
- C. Después de la aparición de cualquier reacción en el sitio de administración
- D. Después de la aparición de una lesión vesicular o pustular en el sitio de administración
- E. Después de la aparición de exantema generalizado en la persona vacunada

Respuestas: 1 = E; 2 = E; 3 = B; 4 = A; 5 = C; 6 = D; 7 = C; 8 = D

REFERENCIAS

- Cono J, Casey CG, Bell DM: Smallpox vaccination and adverse reactions. Guidance for clinicians. MMWR Recomm Rep 2003;52(RR-4):1.
- Haig DM: Poxvirus interference with the host cytotoxic response. Vet Immunol Immunopathol 1998;63:149.
- Jezek Z *et al.*: Human monkeypox: Clinical features of 282 patients. J Infect Dis 1987;156:293.
- Mercer A *et al.*: Molecular genetic analyses of parapoxviruses pathogenic for humans. Arch Virol 1997;13(Suppl): 25.
- Moss B: Genetically engineered poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety. Proc Natl Acad Sci USA 1996;93:11341.
- Wharton M *et al.*: Recommendations for using smallpox vaccine in a pre-event vaccination program: Supplemental recommendations for the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). MMWR Recomm Rep 2003;52(RR-7):1.
- Vaccinia (smallpox) vaccine: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). 2001. MMWR Recomm Rep 2001;50(RR-10):1.

Virus de la hepatitis

La hepatitis viral es una enfermedad sistémica que afecta principalmente al hígado. La mayor parte de los casos de hepatitis viral aguda en niños y adultos se debe a uno de los siguientes agentes: virus de la hepatitis A (VHA), agente etiológico de la hepatitis viral de tipo A (hepatitis infecciosa); virus de la hepatitis B (VHB), relacionado con la hepatitis viral B (hepatitis del suero); virus de la hepatitis C (VHC), el agente de la hepatitis C (causa común de hepatitis posterior a transfusiones); o virus de la hepatitis E (VHE), agente de la hepatitis transmitida por vía entérica. Otros virus se relacionan con la hepatitis que no puede adjudicarse a los agentes conocidos, y la enfermedad resultante se designa como hepatitis no-A-E. Algunos virus bien caracterizados que pueden causar hepatitis esporádica, como el virus de la fiebre amarilla, el citomegalovirus, el virus Epstein-Barr, el virus del herpes simple, el virus de la rubéola y los enterovirus, se estudian en otros capítulos. Los virus de la hepatitis producen inflamación aguda del hígado y dan lugar a una enfermedad clínica caracterizada por fiebre, síntomas gastrointestinales como náuseas y vómito, e ictericia. Cualquiera que sea el tipo de virus, en el hígado se observan lesiones histopatológicas idénticas durante la enfermedad aguda.

PROPIEDADES DE LOS VIRUS DE LA HEPATITIS

Las características de los cinco virus de la hepatitis conocidos se muestran en el cuadro 35-1. En el cuadro 35-2 se presenta la nomenclatura de los virus de la hepatitis, de antígenos y anticuerpos.

Hepatitis tipo A

El VHA es un miembro distintivo de la familia picornavirus (véase capítulo 36). El VHA es una partícula esférica de 27 a 32 nm con simetría cúbica, que contiene un genoma lineal de cadena sencilla de RNA con tamaño de 7.5 kb. Aunque provisionalmente se le clasificó primero como el enterovirus 72, las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos del VHA son lo bastante distintas para asignarle un nuevo género de picornavirus, *Hepatovirus*. Sólo se conoce un serotipo. No hay reactividad antigénica cruzada con el VHB o con otros virus

de la hepatitis. El análisis de la secuencia genómica de una región variable que implica la unión de los genes 1D y 2A divide a los virus VHA aislados en siete genotipos. En el cuadro 36-1 se presentan las propiedades importantes de la familia picornavirus.

El VHA es estable al tratamiento con éter al 20%, con ácido (pH 1.0 durante 2 h) y con calor (60 °C durante 1 h), y su infectividad se puede conservar al menos durante un mes después de secarlo y almacenarlo a 25 °C y 42% de humedad relativa o durante años a -20 °C. El virus se destruye en autoclave (121 °C durante 20 min), por ebullición en agua durante 5 min, por calor seco (180 °C durante 1 h), por radiación ultravioleta (1 min a 1.1 watts), por tratamiento con formol (1:4 000 durante tres días a 37 °C), o por tratamiento con cloro (10 a 15 ppm durante 30 min). Para inactivar el VHA es necesario calentar los alimentos > 85 °C durante 1 min y desinfectar las superficies con hipoclorito de sodio (dilución 1:100 de cloro blanqueador). La resistencia relativa del VHA a los procedimientos de desinfección subraya la necesidad de precauciones adicionales al tratar a los pacientes con hepatitis y sus productos.

El VHA inicialmente se identificó en preparaciones de heces y de hígado con el empleo de inmunomicroscopia electrónica como sistema de detección (figura 35-1). Los métodos de análisis serológicos sensibles y la PCR permitieron detectar el VHA en las heces y en otras muestras, así como medir los anticuerpos específicos en suero.

Varias líneas celulares de primates apoyan el crecimiento del VHA, aunque es difícil adaptar y hacer crecer a los virus recién aislados. En general, no hay efectos citopáticos aparentes. Durante la adaptación a cultivo de tejidos se seleccionan mutaciones en el genoma viral.

Hepatitis tipo B

El VHB se clasifica como un *Hepadnavirus* (cuadro 35-3). El VHB produce infección crónica, sobre todo en personas infectadas desde lactantes, y es un factor importante en el desarrollo final de hepatopatías y del carcinoma hepatocelular en dichas personas.

A. Estructura y composición

La microscopia electrónica de suero reactivo al HBsAg revela tres morfologías (figuras 35-2 y 35-3A). Las partículas en mayor número son esféricas y miden 22 nm de

Cuadro 35-1. Características de los virus de la hepatitis

Virus	Hepatitis A	Hepatitis B	Hepatitis C	Hepatitis D	Hepatitis E
Familia	<i>Picornaviridae</i>	<i>Hepadnaviridae</i>	<i>Flaviviridae</i>	No clasificada	No clasificada
Género	<i>Hepatovirus</i>	<i>Orthohepadnavirus</i>	<i>Hepacivirus</i>	<i>Deltavirus</i>	Como hepatitis E
Virión	27 nm, icosaédrico	42 nm, esférico	60 nm, esférico	35 nm, esférico	30 a 32 nm, icosaédrica
Envoltura	No	Sí (HBsAg)	Sí	Sí (HBsAg)	No
Genoma	ssRNA	dsDNA	ssRNA	ssRNA	ssRNA
Tamaño del genoma	7.5 kb	3.2 kb	9.4 kb	1.7 kb	7.6 kb
Estabilidad	Termoestable y ácido estable	Sensible al ácido	Sensible al éter y al ácido	Sensible al ácido	Termoestable
Transmisión	Fecal-oral	Parenteral	Parenteral	Parenteral	Fecal-oral
Prevalencia	Elevada	Elevada	Moderada	Baja, regional	Regional
Enfermedad fulminante	Poco común	Poco común	Poco común	Frecuente	En el embarazo
Enfermedad crónica	Nunca	Frecuente	Frecuente	Frecuente	Nunca
Oncogénesis	No	Sí	Sí	?	No

Cuadro 35-2. Nomenclatura y definiciones de virus, antígenos y anticuerpos de la hepatitis

Enfermedad	Componente del sistema	Definición
Hepatitis A	VHA	Virus de la hepatitis A. Agente etiológico de la hepatitis infecciosa. Un picornavirus, prototipo del nuevo género, <i>Hepatovirus</i>
	Anti-VHA	Anticuerpo para VHA. Detectable al inicio de los síntomas, persistencia durante toda la vida
	IgM anti-VHA	Anticuerpo de clase IgM contra el VHA. Indica infección reciente con hepatitis A; positivo, hasta 4 a 6 meses después de la infección
Hepatitis B	VHB	Virus de la hepatitis B. Agente etiológico de la hepatitis del suero. Un Hepadnavirus
	HBsAg	Antígeno de superficie de la hepatitis B. Antígeno(s) de superficie del VHB detectable en gran cantidad en el suero; se han identificado varios subtipos
	HBeAg	Antígeno e de la hepatitis B. Antígeno soluble; relacionado con la replicación del VHB, con títulos altos de VHB en suero y con infectividad del suero
	HBcAg	Antígeno central del virus de la hepatitis B
	Anti-HBs	Anticuerpo para HBsAg. Indica infección pasada con VHB e inmunidad al mismo, presencia de anticuerpo pasivo de la HBIG, o respuesta inmunitaria a la vacuna de VHB
	Anti-HBe	Anticuerpo para HBeAg. Presencia en suero del portador de HBsAg sugiere título bajo de VHB
	Anti-HBc	Anticuerpo para HBcAg. Indica infección con VHB en algún momento no definido del pasado
	IgM anti-HBc	Anticuerpo clase IgM para HBcAg. Indica infección reciente con VHB, positivo durante 4 a 6 meses después de la infección
Hepatitis C	VHC	Virus de la hepatitis C, agente etiológico común de la hepatitis postransfusión. Un flavivirus, género <i>Hepacivirus</i>
	Anti-VHC	Anticuerpo al VHC
Hepatitis D	VHD	Virus de la hepatitis D. Agente etiológico de la hepatitis delta sólo causa infección en presencia de VHB
	HDAG	Antígeno d (Ag-δ). Detectable al inicio de la infección aguda por VHD
	Anti-VHD	Anticuerpo para Ag-δ (anti-δ). Indica infección pasada o presente con VHD
Hepatitis E	VHE	Virus de la hepatitis E. Virus de la hepatitis transmitido por vía entérica. Causa extensas epidemias en Asia y el norte de África; transmisión fecal-oral de origen hídrico. No se le ha clasificado
Inmunoglobulinas	IG	Inmunoglobulina USP. Contiene anticuerpos al VHA; sin anticuerpos al HBsAg, VHC o VIH
	HBIG	Inmunoglobulina para hepatitis B. Contiene títulos altos de anticuerpos al VHB

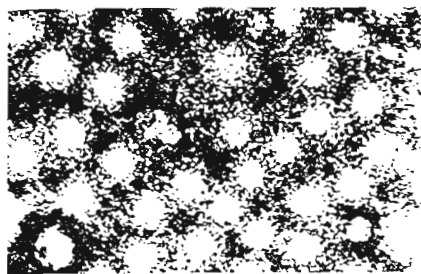


Figura 35-1. Micrografía electrónica de un virus de la hepatitis A de 27 nm agregado a un anticuerpo (222 000 x). Nótese la presencia de un halo de anticuerpo alrededor de cada partícula. (Cortesía de DW Bradley, CL Hornbeck y JE Maynard.)

diámetro (figura 35-3B). Estas partículas pequeñas están formadas de manera exclusiva por HBsAg, como las formas tubulares o filamentosas que tienen el mismo diámetro pero pueden tener más de 200 nm de longitud generadas por la sobreproducción del HBsAg. Las más grandes, viriones esféricos de 42 nm (originalmente conocidos como partículas Dane) se observan con menor frecuencia (figura 35-2). La superficie más externa, o envoltura, contiene HBsAg y rodea a un centro interno de la nucleocápside de 27 nm que contiene el HBcAg (figura 35-3C). La longitud variable de una región de la cadena única del genoma circular de DNA produce partículas genéticamente heterogéneas con una amplia diversidad de densidades de flotación.

El genoma viral (figura 35-4) consiste en DNA circular de doble cadena parcial, con 3 200 pb de longitud. Los

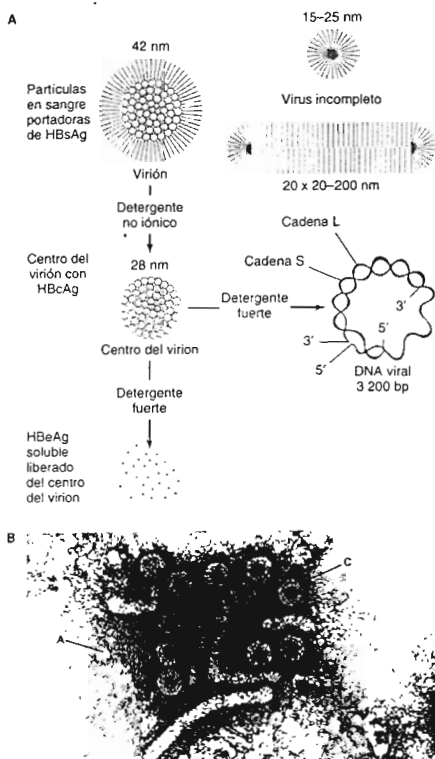


Figura 35-2. Formas viral y subviral de la hepatitis B. A: representación esquemática del HBsAg que contiene tres formas que pueden identificarse en el suero de portadores del VHB. La partícula de Dane esférica de 42 nm se puede desdoblarse mediante detergentes no iónicos para liberar el núcleo de 28 nm que contiene el genoma viral de DNA de doble cadena parcial. Mediante tratamiento con un detergente fuerte puede liberarse de las partículas nucleares un antígeno soluble denominado HBeAg. B: micrografía electrónica mostrando tres variedades distintas que poseen HBsAg: partículas esféricas pleomórficas de 20 nm (A), formas filamentosas (B) y partículas de Dane esféricas de 42 nm, la forma infectante del VHB (C). (Reimpreso con autorización de Wiley-Liss, Inc. una subsidiaria de John Wiley and Sons, Inc., from Robinson WS, Klote L, Aoki N: Hepadnaviruses in cirrhotic liver and hepatocellular carcinoma. J Med Virol 1990;31:18.)

Cuadro 35-3. Propiedades importantes de los *Hepadnavirus*¹

Virión: casi 42 nm de diámetro total (nucleocápside, 18 nm)

Genoma: una molécula de DNA de doble cadena circular de 3.2 kpb. En el virión, la cadena de DNA negativa es de longitud total y la del DNA positiva es parcialmente completa. La hendidura debe completarse al principio del ciclo de replicación

Proteína: dos polipéptidos principales (uno glucosilado) se encuentran en el HBsAg; en el HBcAg está presente un polipéptido

Envoltura: contiene HBsAg y un lípido

Replicación: por medio de una copia de RNA intermedia del genoma de DNA (HBcAg en el núcleo; HBsAg en el citoplasma). Tanto las partículas esféricas de 22 nm como el virus maduro constan de HBsAg secretado de la superficie celular

Características notables:

La familia la constituyen muchos tipos virales, que infectan humanos y animales inferiores (p. ej., marmotas, ardillas, patos)

Produce hepatitis aguda y crónica que evolucionan con frecuencia a estado de portador permanente y carcinoma hepatocelular

¹ Para el VHA, véanse las propiedades del picornavirus (cuadro 36-1); para el VHC véase descripción del flavivirus (cuadro 38-1).

diferentes VHB aislados comparten 90 a 98% de homología en la secuencia de los nucleótidos. La longitud total de la cadena del DNA de signo negativo es complementaria de todos los mRNA del VHB: la cadena de signo positivo (S o cadena corta) es variable y entre 50 y 80% de longitud unitaria.

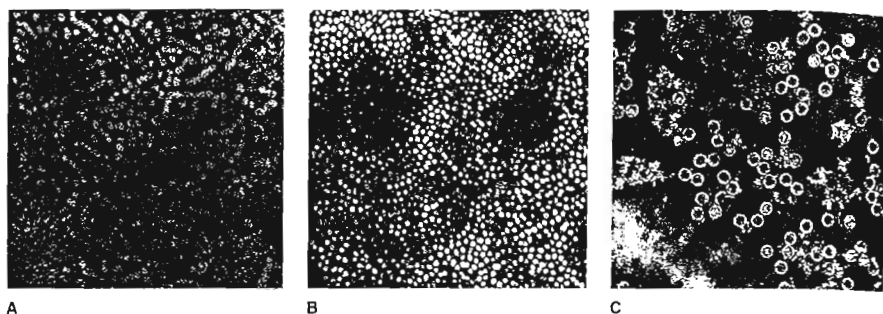


Figura 35-3. A: plasma humano positivo al HBsAg no fraccionado. Se muestran filamentos, partículas esféricas de 22 nm y pocos viriones de 42 nm (77 000 $\times$). B: HBsAg purificado (55 000 $\times$). (Cortesía de RM McCombs y JP Brunschwig.) C: HBcAg purificado de núcleos hepáticos infectados (122 400 $\times$). El diámetro de las partículas centrales es de 27 nm. (Cortesía de HA Fields, GR Dreesman, y G Cabral.)

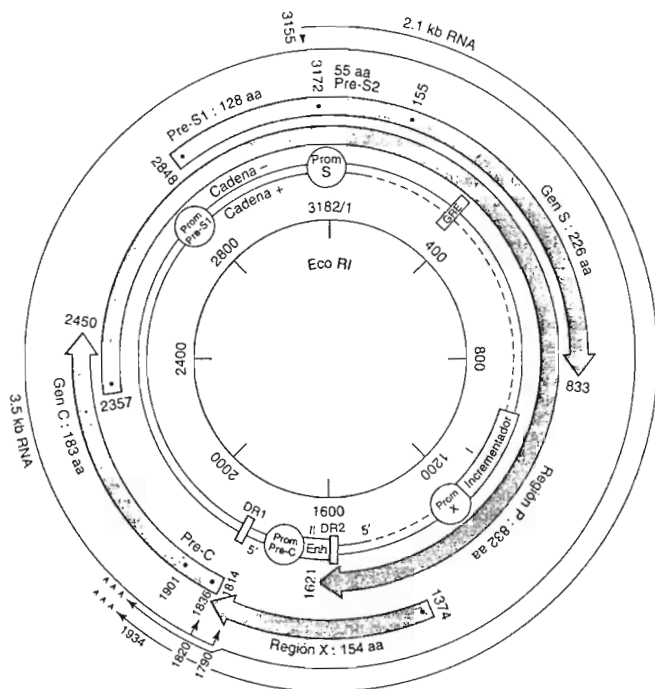


Figura 35-4. Organización genética del genoma del VHB. Cuatro marcos de lectura abiertos codifican siete péptidos y están indicados por flechas grandes. Se han marcado las secuencias reguladoras (promotores [prom]), los aumentadores [Enh], y los elementos que responden a glucocorticoides (GRE)). Sólo se representan los dos principales transcritos (núcleo/pregenoma y mRNA). DR1 y DR2 son dos secuencias directamente repetidas de 11 pb en los extremos 5' de las cadenas positiva y negativa del DNA. (Reproducido con autorización de Buendia MA: Hepatitis B viruses and hepatocellular carcinoma. *Adv Cancer Res* 1992;59:167. Academic Press, Inc., 1992.)

Existen
can siste
turales de
transactiva
rasa gran
sa, trans
codones d
HBsAg, y
cuencias p
inicio den
proteína H

Las
mente con
co de un g
mutuamen
observado
Como los
caso indic
en investi

La es
agente inf
durante m
congelaci
durante 6
después d
HBsAg) e
te 1 min) c
durante 10
h, pero se
sodio al 0.
antigenici
teína, pero
concentraci
con la irrad
tos sangui
este tratam

B. Repl

Los virion
su cubierta
doble cade
cadena ce
NA sirve
incluso un
RNA adqu
Dentro de
por trans
del DNA.
positiva d
tros salen
adquierer
de la célul
introducir
cación en

Hepatitis

Los estudi
perimento
sugerido q

Existen cuatro marcos de lectura abiertos que codifican siete polipéptidos. Estos incluyen las proteínas estructurales de la superficie y del centro del virión, un pequeño transactivador transcripcional (X), y una proteína polimerasa grande (P) que incluye actividades de DNA polimerasa, transcriptasa inversa y RNasa H. El gen S tiene tres codones de inicio dentro del marco y codifica el importante HBsAg, y también polipéptidos que contienen además secuencias preS2 o preS1 y preS2. El gen C tiene dos codones de inicio dentro del marco y codifica el HBeAg, además de la proteína HBe que es procesada para producir HBeAg soluble.

Las partículas que contienen HBsAg son antigénicamente complejas. Cada una contiene un antígeno específico de un grupo, α , además de dos pares de subdeterminantes mutuamente exclusivos, *diy* y *wlr*. De esta manera se han observado cuatro fenotipos de HBsAg: *adw*, *ayw*, *adr* y *ayr*. Como los casos secundarios tienen el mismo subtipo que el caso índice estos marcadores específicos de virus son útiles en investigaciones epidemiológicas.

La estabilidad del HBsAg no siempre coincide con la del agente infectante. Sin embargo, ambos son estables a -20°C durante más de 20 años y estables al congelamiento y la descongelación repetidos. El virus también es estable a 37°C durante 60 min y permanece viable al menos una semana después de secado y almacenado a 25°C . El VHB (pero no el HBsAg) es sensible a temperaturas más altas (100°C durante 1 min) o a períodos de incubación más prolongados (60°C durante 10 h). El HBsAg es estable a pH de 2.4 por más de 6 h, pero se pierde la infectividad del VHB. El hipoclorito de sodio al 0.5% (p. ej., 1:10 blanqueador de cloro) destruye la antigenicidad en 3 min con concentraciones escasas de proteína, pero las muestras de suero no diluido requieren concentraciones mayores (5%). El HBsAg no se destruye con la irradiación ultravioleta del plasma o de otros productos sanguíneos, y la infectividad viral también puede resistir este tratamiento.

B. Replicación del virus de la hepatitis B

Los viriones infectantes se adhieren a las células y pierden su cubierta (figura 35-5). En el núcleo el genoma viral de doble cadena parcial se convierte en DNA circular de doble cadena cerrado por enlaces covalentes (cccDNA). El cccDNA sirve como plantilla para todos los transcritos virales, incluso un pregenoma de RNA de 3.5 kb. El pregenoma de RNA adquiere su cápside con el HBeAg recién sintetizado. Dentro de los centros virales, la polimerasa viral sintetiza por transcripción inversa una copia de la cadena negativa del DNA. La polimerasa comienza a sintetizar la cadena positiva del DNA, pero el proceso no concluye. Los centros salen por gemación de las premembranas de Golgi y adquieren envolturas que contienen HBsAg y pueden salir de la célula. Opcionalmente, los centros virales pueden reintroducirse otra vez al núcleo e iniciar otro ciclo de replicación en la misma célula.

Hepatitis tipo C

Los estudios clínicos y epidemiológicos, así como los experimentos de inducción cruzada en chimpancés habían sugerido que existían varios agentes de la hepatitis no-A,

no-B (NANB) los cuales, con base en las pruebas serológicas, no se relacionaban con el VHA o el VHB. El principal agente se identificó como virus hepatitis C (VHC). VHC es un virus con RNA-cadena positiva, clasificado como miembro de la familia *Flaviviridae*, género *Hepacivirus*. Muchos virus se pueden diferenciar a través del análisis de la secuencia del RNA, distinguiéndose al menos seis genotipos diferentes (clades) y más de 70 subtipos. El genoma tiene un tamaño de 9.4 kb y codifica para una proteína central, dos glucoproteínas de la envoltura y varias proteínas no estructurales (figura 35-6). La expresión de las clonas cDNA del VHC en levaduras condujo al desarrollo de pruebas serológicas para los anticuerpos al VHC. La mayoría de los casos postransfusión de hepatitis (NANB) fueron causados por VHC.

La mayor parte de las infecciones nuevas de VHC son subclínicas. La gran mayoría (70 a 90%) de los pacientes con VHC desarrolla hepatitis crónica, y muchos tienen riesgo de progresar a una hepatitis crónica activa y cirrosis (10 a 20%). En algunos países, como en Japón, la infección por VHC con frecuencia produce carcinoma hepatocelular. Alrededor de 25 000 personas mueren en EUA al año por enfermedad hepática crónica y cirrosis; el VHC parece ser una de las principales causas de esta cifra (aproximadamente 40%).

El VHC tiene diversidad genómica con diferentes genotipos predominantes en diferentes partes del mundo. Los virus sufren variación de secuencias durante la infección crónica. Esta compleja población viral en un huésped se conoce como "cuasiespecies". Esta diversidad genética no se correlaciona con las diferencias observadas en la enfermedad clínica, aunque sí existen diferencias en respuesta a la terapia antiviral de acuerdo con el genotipo viral identificado.

Hepatitis tipo D (hepatitis delta)

En algunas infecciones por VHB se detecta un sistema de antígeno-anticuerpo denominado antígeno δ (δ -Ag) y un anticuerpo (anti- δ). El antígeno se encuentra dentro de ciertas partículas de HBsAg. En la sangre, el VHD (agente δ) contiene δ Ag (HDAg) rodeado por una envoltura de HBsAg. Tiene un tamaño de partícula de 35 a 37 nm y una densidad de flotación de 1.24 a 1.25 g/mL en CsCl. El genoma de VHD consiste en RNA de sentido negativo, circular, de una sola cadena, con 1.7 kb. Es el más pequeño de los patógenos humanos conocidos y se asemeja a patógenos vegetales subvirales; es decir, viroides. No existe homología con el genoma de VHB. HDAg es la única proteína codificada por VHD RNA y es distinta de los determinantes antigénicos de VHB. El VHD es un virus defectuoso que adquiere una cubierta de HBsAg para transmitirse. Con frecuencia se relaciona con las variantes más graves de hepatitis en los pacientes positivos al HBsAg.

Hepatitis tipo E

El virus de la hepatitis E (VHE) se transmite por vía entérica y se presenta de manera epidémica en los países en desarrollo, donde el suministro de agua a veces está contaminado con materia fecal. Fue comprobado por primera vez en

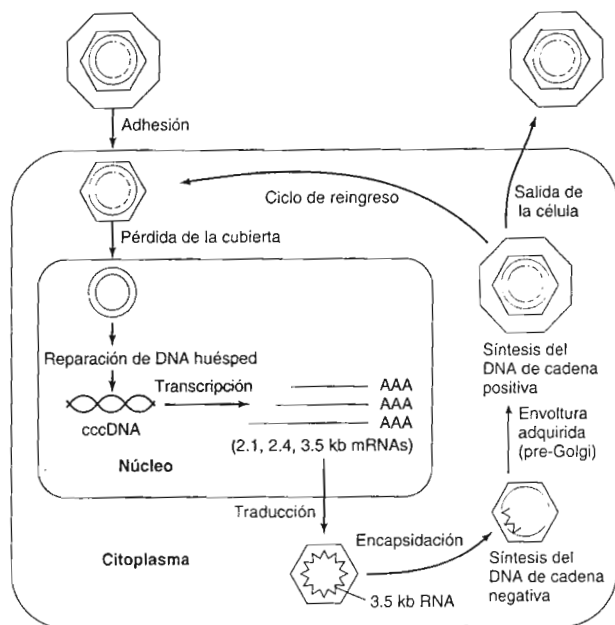


Figura 35-5. Ciclo de replicación del VHB. El VHB se une a un receptor en la superficie de los hepatocitos por medio de una porción de la región pre-S del HBsAg. Después de que el virus pierde su cubierta, enzimas celulares no identificadas convierten la doble cadena parcial de DNA en DNA circular covalente cerrado (ccc) que puede detectarse en el núcleo. El cccDNA sirve como plantilla para la producción de: mRNA y del pregenoma de RNA de 3.5 kb del VHB. El pregenoma se encapsida por una señal de empaquetamiento localizada cerca del extremo 5' del RNA en las partículas centrales recién sintetizadas, donde sirve como plantilla o molde para la transcriptasa inversa del VHB codificada en el gen polimerasa. Una actividad RNasa H de la polimerasa retira la plantilla del RNA conforme se sintetiza la cadena negativa del DNA. La síntesis de la cadena positiva del DNA no procede hasta concluir dentro del centro, y como resultado se produce un intermedio replicante que consiste en una cadena negativa del DNA de longitud total además de una cadena positiva del DNA de longitud variable (20 a 80%). Las partículas centrales que contienen estos intermediarios replicantes de DNA salen por gemación de las premembranas de Golgi (adquieren HBsAg en el proceso) y pueden salir de las células o reingresar al ciclo de infección intracelular. (Reproducido con autorización de Butel JS, Lee TH, Slagle BL: Is the DNA repair system involved in hepatitis-B-virus-mediated hepatocellular carcinogenesis? *Trends Microbiol* 1996;4:119.)

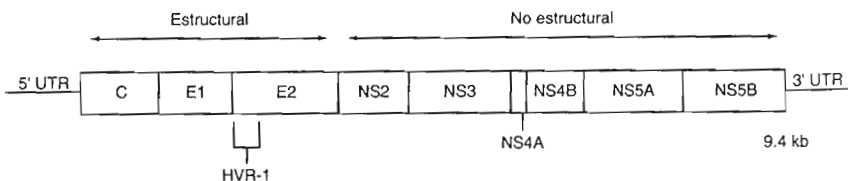


Figura 35-6. Organización genética del genoma del VHC. El marco de lectura abierta único se expresa como una poliproteína que posteriormente será procesada; las posiciones de los dominios estructurales y no estructurales se muestran aquí. HVR-1 representa la región hipervariable de una proteína de cubierta. (Reproducido con autorización de Chung RT, Liang TJ: Hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma. In: *Microbes and Malignancy: infection as a Cause of Human cancers*. Parsonnot J [editor]. Oxford University Press, 1999.)

muestras recolectadas durante el brote epidémico de 1955 en Nueva Delhi, cuando se presentaron 29 000 casos de hepatitis icterica después de la contaminación de la red de suministro de agua potable de la ciudad con aguas negras. Las mujeres embarazadas pueden mostrar una tasa de mortalidad muy grande (20%). El genoma viral ha sido clonado y es un RNA de una sola cadena de sentido positivo con 7.6 kb. El virus se asemeja a los calicivirus, pero no está clasificado. Las cepas animales de VHE son comunes en todo el mundo. Hay evidencia de infecciones por VHE o parecidas a VHE en roedores, cerdos, cameros y ganado en EUA.

INFECCIONES EN HUMANOS POR VIRUS DE LA HEPATITIS

Patología

Microscópicamente hay degeneración en puntos de las células parenquimatosas con necrosis de los hepatocitos, reacción lobulillar inflamatoria difusa y rotura de los cordones celulares del hígado. Estos cambios parenquimatosos se acompañan de hiperplasia de las células reticuloendoteliales (de Kupffer), infiltración periportal por células mononucleares y degeneración celular. Con frecuencia se observan zonas localizadas de necrosis con degeneración vacuolar o cuerpos acidófilos. En la enfermedad avanzada hay acumulación de macrófagos que contienen lipofusina, cerca de los hepatocitos en proceso de degeneración. Después del edema o la necrosis de las células hepáticas puede presentarse la rotura de los canaliculos biliares o el bloqueo de la excreción biliar. La conservación del esqueleto reticular permite la regeneración de los hepatocitos, de modo que en último término se puede recuperar la arquitectura muy ordenada del lobulillo hepático. Por lo general, el tejido hepático dañado, se restablece en 8 a 12 semanas.

Los portadores crónicos de HBsAg pueden o no mostrar evidencia de enfermedad hepática. La hepatitis viral persistente (no resuelta) es una enfermedad benigna leve que puede ser posterior a la hepatitis B aguda en 8 a 10% de los pacientes adultos, y se caracteriza por valores esporádicamente anormales de transaminasas y hepatomegalia. Histológicamente, la arquitectura lobulillar se conserva con inflamación porta, hepatocitos edematosos y pálidos (arreglo en empedrado) y fibrosis leve o ausente. Esta lesión se observa con frecuencia en los portadores asintomáticos. En general no evoluciona a cirrosis y tiene un pronóstico favorable.

La hepatitis crónica activa presenta una diversidad de cambios histológicos, que van desde inflamación y necrosis hasta el colapso del esqueleto reticular normal con formación de puentes entre las triadas portaes o las venas hepáticas terminales. Se observa HBsAg en 10 a 50% de estos pacientes.

En ocasiones, durante la hepatitis viral aguda, puede presentarse un daño más extenso que impide la regeneración ordenada de las células hepáticas. Esta necrosis hepatocelular fulminante o masiva se observa en 1 a 2% de los pacientes ictericos con hepatitis B. Es 10 veces más común en quienes presentan infección concurrente con VHD que en ausencia de éste.

Ninguno de los virus de la hepatitis es comúnmente citopatógeno, y se cree que el daño celular observado en la hepatitis está mediado por procesos inmunitarios.

Tanto el VHB como el VHC tienen funciones importantes en el desarrollo del carcinoma hepatocelular que puede aparecer muchos años después (15 a 60) del establecimiento de una infección crónica.

Datos clínicos

Las características clínicas de las infecciones por VHA, VHB y VHC se resumen en el cuadro 35-4. En los casos individuales, no es posible establecer una distinción clínica confiable entre los diversos casos producidos por los virus de la hepatitis.

Otras enfermedades virales que pueden presentarse como hepatitis son mononucleosis infecciosa, fiebre amarilla, infección por citomegalovirus, herpes simple, rubéola y algunas infecciones por enterovirus. Ocasionalmente, la hepatitis puede presentarse como complicación de leptospirosis, sífilis, tuberculosis, toxoplasmosis y amibiasis; todas ellas susceptibles de tratamiento con fármacos específicos. Las causas no infecciosas incluyen obstrucción biliar, cirrosis biliar primaria, enfermedad de Wilson, toxicidad por fármacos y las reacciones de hipersensibilidad a los fármacos.

En la hepatitis viral, el inicio de la ictericia con frecuencia va precedido de síntomas gastrointestinales como náuseas, vómito, anorexia y fiebre leve. La ictericia puede aparecer en los primeros días del periodo prodrómico, pero es más común la hepatitis anictérica.

Las manifestaciones extrahepáticas de la hepatitis viral (principalmente de tipo B) incluyen: un pródromo transitorio similar a enfermedad del suero, consistente en fiebre, erupción cutánea y poliartritis; vasculitis necrosante (poliarteritis nodosa); y glomerulonefritis. Se han sugerido a los complejos inmunitarios como causa de estos síndromes circulantes. Las enfermedades relacionadas con infecciones crónicas por VHC son crioglobulinemia y glomerulonefritis mixtas. Las manifestaciones extrahepáticas son poco frecuentes en la infección por VHA.

La hepatitis viral no complicada raras veces continúa por más de 10 semanas sin mejoría. En 5 a 20% de los casos se presentan recaídas manifestadas por anomalías de la función hepática, con o sin recidiva de los síntomas clínicos.

El periodo de incubación promedio es diferente para cada tipo de hepatitis viral (cuadro 35-4). Sin embargo, hay una superposición considerable en los tiempos y el paciente a veces no sabe cuándo ocurrió la exposición, de modo que el periodo de incubación no es un dato muy útil para determinar la causa viral específica.

Con el VHA el inicio de la enfermedad tiende a presentarse de manera brusca (antes de 24 h), en contraste con un inicio más insidioso con el VHB y el VHC. En la mayor parte de los casos de hepatitis A hay recuperación completa; no se ha observado cronicidad (cuadro 35-5). La enfermedad es más grave en adultos que en niños, en quienes con frecuencia pasa inadvertida. Las recaídas de la infección por VHA pueden tener lugar 1 a 4 meses después que los síntomas iniciales se han resuelto.

Cuadro 35-4. Características epidemiológicas y clínicas de los tipos A, B y C de la hepatitis viral

	Hepatitis viral tipo A	Hepatitis viral tipo B	Hepatitis viral tipo C
Periodo de incubación	10 a 50 días (promedio 25 a 30)	50 a 180 días (promedio 60 a 90)	15 a 160 días (promedio 50)
Distribución por edades	Niños, ¹ adultos jóvenes	15 a 29 años, ² bebés	Adultos ²
Incidencia estacional	Durante todo el año, pero tiende a un máximo en el otoño	Durante todo el año	Durante todo el año.
Ruta de la infección	Principalmente fecal-oral	Predominantemente parenteral	Predominantemente parenteral
Presencia del virus Sangre	Dos semanas antes a una semana después de la ictericia	Meses a años	Meses a años
Heces	Dos semanas antes a dos semanas después de la ictericia	Ausente	Tal vez ausente
Orina	Poco común	Ausente	Quizá ausente
Saliva, semen	Poco común (saliva)	Con frecuencia presente	Presente (saliva)
Características clínicas y de laboratorio			
Inicio	Brusco	Insidioso	Insidioso
Fiebre > 38 °C	Común	Menos común	Menos común
Duración del aumento de la aminotransferasa	1 a 3 semanas	1 a 6 o más meses	1 a 6 o más meses
Inmunoglobulinas (concentraciones de IgM)	Aumentada	Normal a ligeramente aumentada	Normal a poco aumentada
Complicaciones	Poco comunes, sin tendencia a la cronicidad	Cronicidad en 5 a 10% (95% en neonatos)	Cronicidad en 70 a 90%
Tasa de mortalidad (casos con ictericia)	< 0.5%	< 1 a 2%	0.5 a 1%
HBsAg	Ausente	Presente	Ausente
Imunidad			
Homóloga	Sí	Sí	Probablemente que no
Heteróloga	No	No	No
Duración	Quizá durante toda la vida	Quizá toda la vida	?
Inmunoglobulina intramuscular (IG, gammaglobulina, ISG)	Regularmente evita la ictericia	Evita la ictericia sólo si la gammaglobulina tiene suficiente potencia contra el VHB	?

¹ La hepatitis A anictérica es común en niños.

² En el grupo de edad de 15 a 29 años, las hepatitis B y C con frecuencia se relacionan con abuso de drogas o conducta sexual promiscua. Los pacientes con VHB o VHC vinculados con transfusión generalmente son mayores de 29 años.

El resultado de la infección con VHB varía desde recuperación completa hasta evolución a hepatitis crónica y, pocas veces, el paciente muere debido a enfermedad fulminante. En los adultos son inaparentes 65 a 80% de las infecciones y 90 a 95% de todos los pacientes se recuperan por completo. Por el contrario, 80 a 95% de los lactantes y niños de corta edad infectados con VHB se convierten en portadores crónicos (cuadro 35-6), y el suero permanece positivo para HBsAg. La mayoría de las personas con VHB permanecen asintomáticas durante muchos años; pueden o no mostrar evidencia bioquímica e histológica de enfermedad hepática. Los portadores crónicos están en riesgo mayor de desarrollar carcinoma hepatocelular.

En ocasiones se presenta hepatitis fulminante durante la hepatitis viral aguda, definida como encefalopatía hepática dentro de las primeras ocho semanas de enfermedad en pacientes sin enfermedad hepática preexistente. Es mortal en 70 a 90% de los casos, con supervivencia poco común después de los 40 años de edad. La enfermedad fulminante por VHB se asocia con sobreinfección por otros agentes, incluso VHD. En la mayoría de los sobrevivientes la regla es el restablecimiento completo del parénquima hepático y de la función hepática normal. La enfermedad fulminante rara vez se presenta con infecciones de VHA o VHC.

La hepatitis C en general es clínicamente leve, con aumento mínimo o moderado de las enzimas hepáticas. La

Cuadro 35-5. Resultados de la infección con virus de la hepatitis A¹

Resultado	Niños	Adultos
Infección inaparente (subclínica)	80 a 95%	10 a 25%
Enfermedad icterica	5 a 20%	75 a 90%
Recuperación completa	> 98%	> 98%
Enfermedad crónica	Ninguno	Ninguno
Tasa de mortalidad	0.1%	0.3 a 2.1%

¹Adaptado de Hollinger FB, Ticehurst JR: Hepatitis A virus. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. (editors). Lippincott-Raven, 1996.

hospitalización es poco frecuente y la ictericia se presenta en menos de 25% de los pacientes. A pesar de la naturaleza benigna de la enfermedad, más de 70 a 90% de los casos evoluciona a enfermedad hepática crónica. La mayoría de los pacientes son asintomáticos, pero la evaluación histológica con frecuencia revela evidencia de hepatitis crónica activa, sobre todo en aquellos con enfermedad contraída después de una transfusión. Muchos pacientes (20 a 50%) desarrollan cirrosis y tienen alto riesgo de presentar carcinoma hepatocelular (5 a 25%) décadas después. Cerca de 40% de la enfermedad hepática crónica se relaciona con VHC, dando como resultado un estimado de 8 000 a 10 000 muertes al año en EUA. La enfermedad hepática terminal relacionada con VHC es la indicación más frecuente para trasplante hepático en el adulto.

Diagnóstico de laboratorio

La biopsia del hígado permite el diagnóstico histológico de la hepatitis. Las pruebas de funcionamiento hepático anormal, como alanina aminotransferasa en suero (ALT) y la bilirrubina, complementan los datos clínicos, patológicos y epidemiológicos.

A. Hepatitis A

Los eventos clínicos, virológicos y serológicos subsecuentes a la exposición al VHA se muestran en la figura 35-7.

Se han detectado partículas virales por microscopia electrónica utilizando anticuerpos en los extractos fecales de los pacientes con hepatitis A (figura 35-1). El virus aparece al principio de la enfermedad y desaparece antes de dos semanas después de iniciada la ictericia.

Es posible detectar el VHA en hígado, heces, bilis y sangre de humanos infectados naturalmente, así como de primates no humanos infectados experimentalmente, mediante inmunoprecipitación, análisis de hibridación de ácido nucleico, o PCR. VHA se detecta en las heces aproximadamente dos semanas antes del inicio de la ictericia hasta dos semanas después.

El anti-VHA aparece en la fracción IgM durante la fase aguda y alcanza su máximo casi dos semanas después del aumento de las enzimas hepáticas (cuadro 35-7). La IgM anti-VHA en general declina hasta concentraciones no detectables antes de 3 a 6 meses. La IgG anti-VHA aparece poco después del inicio de la enfermedad y persiste durante decenios. Por tanto, la detección de la IgM específica anti-VHA en la sangre de un paciente con enfermedad aguda confirma el diagnóstico de hepatitis A. El método preferido para medir anticuerpos al VHA es la prueba de ELISA.

B. Hepatitis B

Los eventos clínicos y serológicos subsecuentes a la exposición al VHB se muestran en la figura 35-8 y en el cuadro 35-8. La actividad de la DNA polimerasa, el DNA del VHB y el HBeAg, los cuales son representativos de la etapa vírica de la hepatitis B, se presentan tempranamente en el periodo de incubación de manera concurrente o poco después de la primera aparición del HBsAg. En la sangre pueden aparecer grandes concentraciones de partículas del VHB (hasta 10^{10} partículas/mL) durante la fase inicial de la infección; la transmisibilidad es alta en ese momento. El HBsAg casi siempre es detectable de 2 a 6 semanas antes de la evidencia clínica y bioquímica de hepatitis y persiste durante toda la evolución clínica de la enfermedad, pero típicamente desaparece al sexto mes después de la exposición.

Con frecuencia se detectan grandes concentraciones de IgM anti-HBc específica al inicio de la enfermedad clínica. Puesto que este anticuerpo está dirigido contra el núcleo interno de 27 nm del VHB, su aparición en el suero indica replicación viral. El anticuerpo al HBsAg se detecta por primera vez durante un periodo variable después de la desaparición del HBsAg. Se presenta en concentraciones

Cuadro 35-6. Transmisión de virus de hepatitis B y distribución de resultados de infección

	Transmisión ¹		
	Vertical (Asia)	Contacto (África)	Parenteral, sexual
Edad al presentarse la infección	Recién nacidos, infantes	Niños jóvenes	Adolescentes, adultos
Recuperación de enfermedad aguda	5%	20%	90 a 95%
Progreso a infección crónica	95%	80%	5 a 10%
Portadores crónicos ² (% de población total)	10 a 20%	10 a 20%	0.5%

¹ La transmisión relacionada vertical y por contacto se presenta en regiones endémicas; la transmisión parenteral y sexual es el modo principal de transmisión en regiones no endémicas.

² En alto riesgo de desarrollar carcinoma hepatocelular.

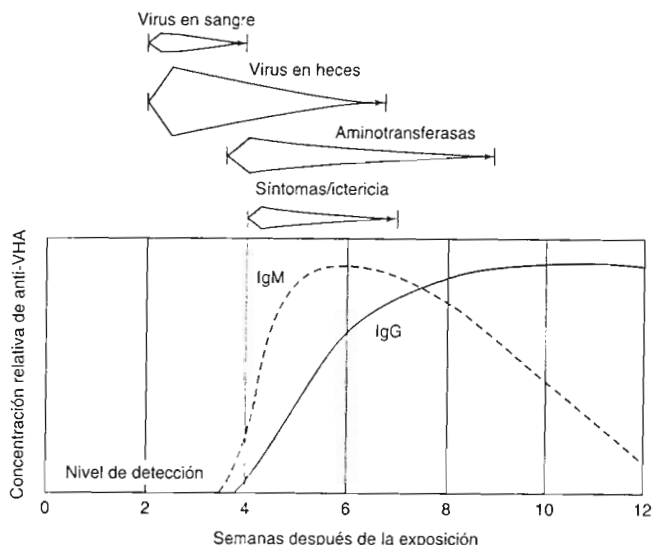


Figura 35-7. Eventos inmunológicos y biológicos relacionados con infección humana por virus de la hepatitis A. (Reproducido con autorización de Hollinger FB, Ticehurst JR: Hepatitis A virus. In: *Fields Virology*, 3rd. ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996. Modified there from Hollinger FB, Dienstag JL: Hepatitis viruses. IN: *Manual of Clinical Microbiology*, 4th ed. American Society for Microbiology, 1985.)

bajas. Antes de la desaparición del HBsAg, el HBeAg es sustituido por el anti-HBe, lo cual señala el inicio de la resolución de la enfermedad. Las concentraciones de anti-HBe con frecuencia ya no son detectables después de seis meses.

Por definición, los portadores crónicos de VHB son aquellos en quienes persiste el HBsAg por más de seis meses en presencia de HBeAg o de anti-HBe. El HBsAg puede persistir durante años después de la pérdida del HBeAg. Al contrario de los títulos altos de la IgM anti-HBc específicos observados en la enfermedad aguda, en el suero de la mayoría de los portadores de HBsAg se observan títulos bajos de la IgM anti-HBc. Generalmente se detectan en el suero pequeñas cantidades del DNA del VHB, en tanto el HBsAg esté presente.

Los métodos de detección más útiles son ELISA, para detectar antígenos y anticuerpos VHB, y la PCR para detectar DNA viral.

C. Hepatitis C

Los sucesos clínicos y serológicos relacionados con infecciones por VHC se muestran en la figura 35-9. La mayor parte de las infecciones son clínicamente asintomáticas o leves (20 a 30% tienen ictericia, 10 a 20% tiene sólo síntomas inespecíficos como anorexia, malestar general y dolor abdominal). Existen pruebas serológicas para el diagnóstico de infección por VHC. Con los inmunoanálisis enzimáticos (ELA) se detectan anticuerpos para VHC pero no se distingue entre infección aguda, crónica o resuelta (cuadro

Cuadro 35-7. Interpretación de marcadores serológicos de VHA, VHC y VHD en pacientes con hepatitis

Resultados del estudio	Interpretación
Positivo a anti-VHA IgM	Infección aguda con VHA
Positivo a anti-VHA IgG	Infección anterior con VHA
Positivo a anti-VHC	Infección actual o pasada con VHC
Positivo a anti-VHD, positivo a HBsAg	Infección con VHD
Positivo a anti-VHD, positivo a anti-HBc IgM	Coinfección con VHD y VHB
Positivo a anti-VHD, negativo a anti-HBc IgM	Superinfección de infección crónica por VHB con VHD

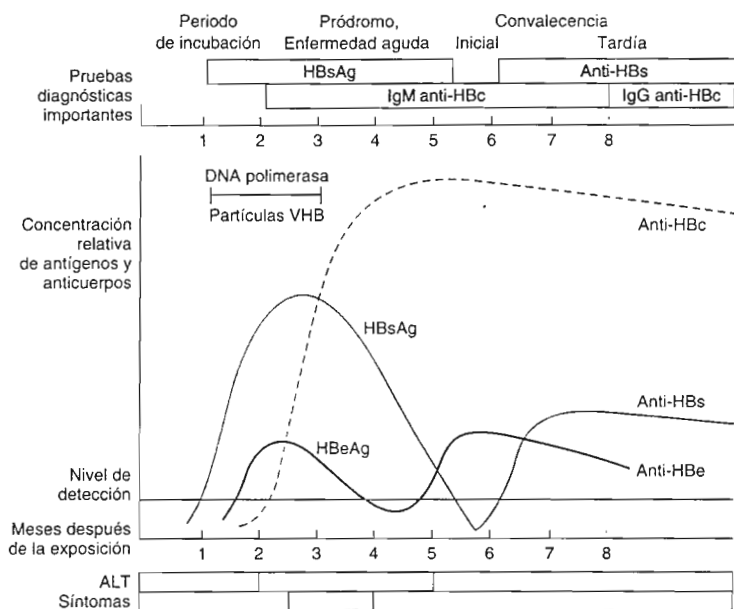


Figura 35-8. Eventos clínicos y serológicos que tienen lugar en un paciente con infección aguda por virus de la hepatitis B. Las pruebas diagnósticas comunes y su interpretación se presentan en el cuadro 35-8. (Reproducido con autorización de Hollinger FB, Dienstag JL: Hepatitis B and D viruses. In: *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, 1995.)

Cuadro 35-8. Interpretación de los marcadores serológicos del VHB en pacientes con hepatitis¹

Resultados del análisis			Interpretación
HBsAg	Anti-HBs	Anti-HBc	
Positivo	Negativo	Negativo	Infección por VHB inicial aguda. Se requiere confirmación para excluir una reactividad inespecífica
Positivo	(±)	Positivo	Infección por VHB, aguda o crónica. Diferenciar con IgM anti-HBc. Determinar el nivel de la actividad replicativa (infecciosidad) con HBeAg o DNA del VHB
Negativo	Positivo	Positivo	Indica infección previa por VHB e inmunidad a la hepatitis B
Negativo	Negativo	Positivo	Las posibilidades incluyen: infección por VHB en el pasado; portador del VHB "de bajo nivel"; "ventana" entre la desaparición del HBsAg y la aparición del anti-HBs; o una reacción falsa positiva o inespecífica. Investigar con IgM anti-HBc, probar con vacuna de HBsAg, o ambas cosas. Cuando está presente, el anti-HBe ayuda a validar la reactividad anti-HBc
Negativo	Negativo	Negativo	Otro agente infeccioso, lesión tóxica al hígado, enfermedad inmunitaria, enfermedad hereditaria del hígado o enfermedad del conducto biliar
Negativo	Positivo	Negativo	Respuesta tipo vacuna

¹Modificado y reproducido con autorización de Hollinger FB: Hepatitis B virus. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. (editors). Lippincott Raven, 1996.

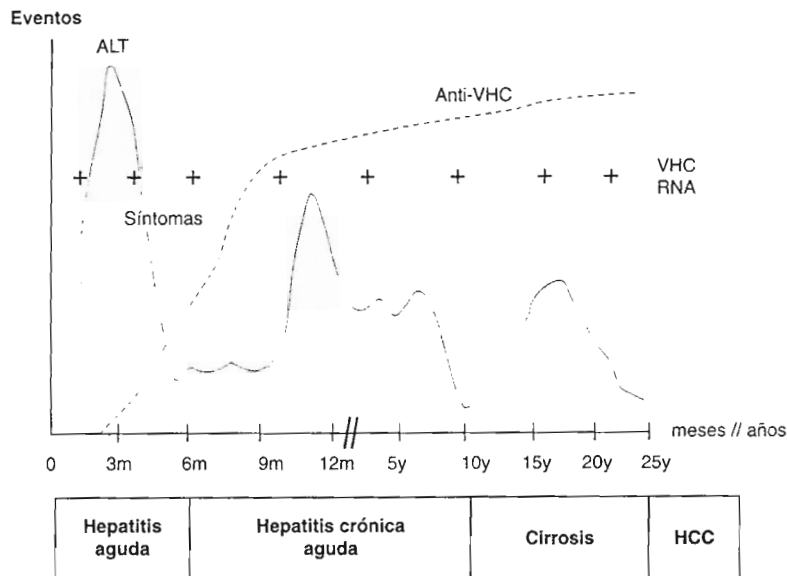


Figura 35-9. Sucesos clínicos y serológicos relacionados con infección por virus de hepatitis C. ALT, aminotransferasa de alanina. (Reproducida con autorización de Garnier L, Inchauspé G, Trépo C: Hepatitis C virus. En: *Clinical Virology*, 2a ed. Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG [editores]. ASM Press, 2002.)

35-7). Los anticuerpos anti-VHC se detectan en 50 a 70% de los pacientes al inicio de los síntomas, en tanto que en otros la aparición del anticuerpo se retrasa de 3 a 6 semanas. Los anticuerpos se dirigen contra el núcleo, la envoltura y proteínas NS3 y NS4 y tienden a ser relativamente bajas en título. Los ensayos basados en ácidos nucleicos (p. ej., RT-PCR) detectan la presencia de RNA-VHC circulante y son muy útiles para dar seguimiento a los pacientes sometidos a terapia antiviral. Los ensayos de ácidos nucleicos también se utilizan para tipificar los aislados de VHC.

Las infecciones ocultas por VHB se presentan muy frecuentemente (alrededor de 33%) en pacientes con enfermedad hepática crónica relacionada con VHC. Las infecciones ocultas son aquellas donde el paciente carece de HBsAg detectables, pero el DNA-VHB se puede identificar en muestras de suero o tejido hepático. Estas infecciones por VHB inadvertidas pueden tener gran relevancia clínica.

D. Hepatitis D

En la figura 35-10 y en el cuadro 35-7 se muestran los patrones serológicos subsecuentes a la infección por VHD. Puesto que el VHD depende de la infección coexistente por VHB, la infección aguda al tipo D se presenta, ya como infección simultánea (coinfección con VHB), o como sobreinfección en una persona crónicamente infectada con VHB. En el patrón de coinfección se desarrollan anticuerpos a HDag tardíamente en la fase aguda de la infección y puede haber títulos bajos. Se prefieren los análisis para HDag o RNA del VHD en suero o para IgM anti-VHD

específica. Todos los marcadores de la replicación del VHD desaparecen durante la convalecencia; incluso los anticuerpos al VHD pueden desaparecer en unos cuantos meses o años. Sin embargo, la sobreinfección por VHD comúnmente produce infección persistente por VHD (más de 70% de los casos). Continúan los aumentos en los valores de la IgM y de la IgG anti-HD, igual que las concentraciones del RNA del VHD y del HDag. Las sobreinfecciones con VHD pueden relacionarse con hepatitis fulminante.

Reacciones inmunitarias virus-huésped

En la actualidad hay evidencia de al menos cinco virus de la hepatitis: tipos A, B, C, D y E. Se cree que una infección con cualquier tipo confiere protección homóloga, pero no heteróloga, contra la reinfección. Una excepción posible podría ser el VHC, donde se podría volver a presentar la infección.

La mayoría de los casos de hepatitis tipo A presuntamente se presentan sin ictericia durante la infancia, y más tarde en la edad adulta se observa resistencia muy extendida a la reinfección. Sin embargo, en EUA los estudios serológicos indican que la incidencia de la infección entre ciertas poblaciones puede estar en declinación como resultado de las mejores condiciones sanitarias, producto del aumento de los niveles de vida. En EUA se estima que 60 a 90% de los adultos jóvenes de nivel socioeconómico medio a superior son susceptibles a la hepatitis tipo A.

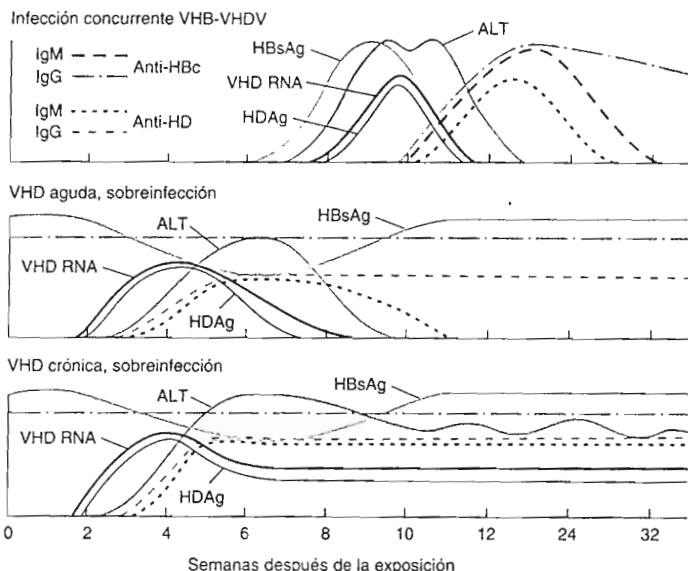


Figura 35-10. Patrones serológicos de la hepatitis D después de la coinfección o la sobreinfección de una persona con infección por VHB. **Arriba:** hepatitis B aguda coexistente con hepatitis D. **Medio:** hepatitis D aguda sobrepuesta a una infección crónica con virus de la hepatitis B. **Abajo:** hepatitis D aguda en evolución a hepatitis crónica, sobrepuesta a una infección crónica por virus de la hepatitis B. (Reproducido con autorización de Purcell RH et al.: *Hepatitis. In: Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*, 6th ed. Schmidt NJ, Emmons RW [editors]. American Public Health Association, 1989.)

La infección con VHB de un subtipo específico, por ejemplo, HBsAg_{adw}, parece conferir inmunidad contra otros subtipos de HBsAg, tal vez debido a la especificidad del grupo común *a*. Aún deben dilucidarse los mecanismos inmunopatogénicos que dan lugar a la persistencia viral y la lesión hepatocelular en la hepatitis tipo B. Puesto que el virus no es citopático, se cree que el daño hepatocelular observado durante la enfermedad aguda representa un ataque inmune del huésped contra los hepatocitos infectados por VHB.

Las respuestas del huésped, tanto inmunológicas como genéticas, parecen ser las responsables de la alta frecuencia de la cronicidad de VHB en niños con infección conocida. Casi 95% de los recién nacidos infectados durante el parto se convierten en portadores crónicos del virus, con frecuencia para toda la vida (cuadro 35-6). Este riesgo disminuye de manera paulatina con el tiempo, de modo que en los adultos infectados el riesgo de convertirse en portadores se reduce a 10%. Es más probable que el carcinoma hepatocelular se presente en los adultos que han experimentado infección por VHB a una edad muy temprana y se convirtieron en portadores. Por tanto, para lograr la máxima eficacia de la vacuna contra el estado de portador, la cirrosis y el hepatoma, la inmunización debe efectuarse durante la primera semana de vida.

Se conoce menos acerca de las respuestas inmunes del huésped contra VHC. La mayoría de las infecciones agudas son asintomáticas o leves, y las infecciones crónicas generalmente progresan en forma lenta e insidiosa. Al parecer, la respuesta inmune es lenta en cuanto al desarrollo y relativamente débil. Esto podría explicar por qué el huésped no puede evitar las infecciones crónicas por VHC.

Epidemiología

Las distribuciones mundiales de infecciones por hepatitis A, B y C se ilustran en la figura 35-11. Como se muestra en el cuadro 35-4, hay una notable diferencia en las características epidemiológicas de estas infecciones.

En EUA, el riesgo de que estos virus se transmitan por transfusión se ha reducido notablemente como resultado de mejores pruebas de detección y el establecimiento de grupos de donadores voluntarios. En 1996 se calculó que el riesgo de transmisión del VHB es de 1:63 000 y para el VHC de 1:103 000.

A. Hepatitis A

El VHA está ampliamente propagado por todo el mundo. Los brotes de hepatitis tipo A son comunes en familias e instituciones, campos de verano, guarderías, unidades de

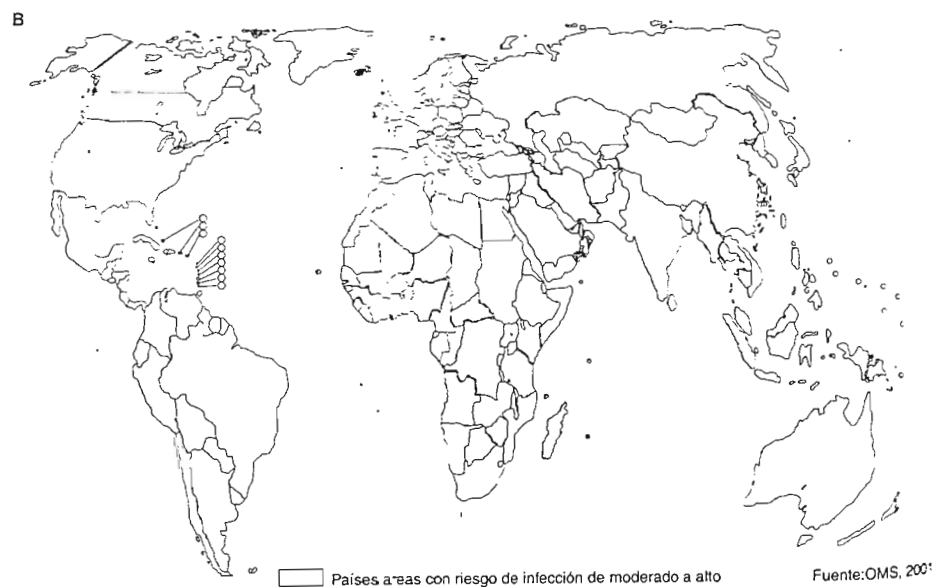
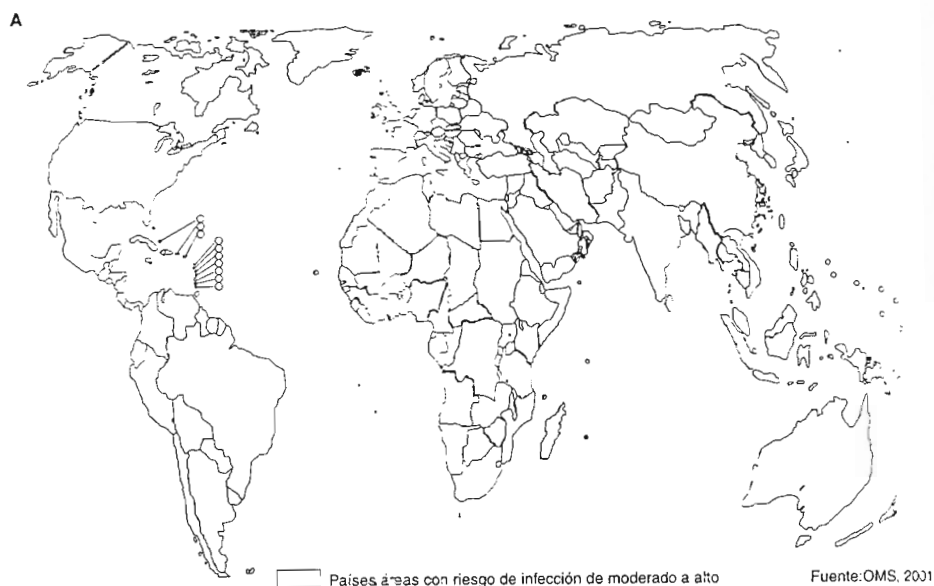


Figura 35-11. Distribución global en 2001 de virus de hepatitis que causan enfermedad humana. (A) Virus de hepatitis A (B) Virus de hepatitis B. (C) Virus de hepatitis C. Fuente: OMS, 2001.

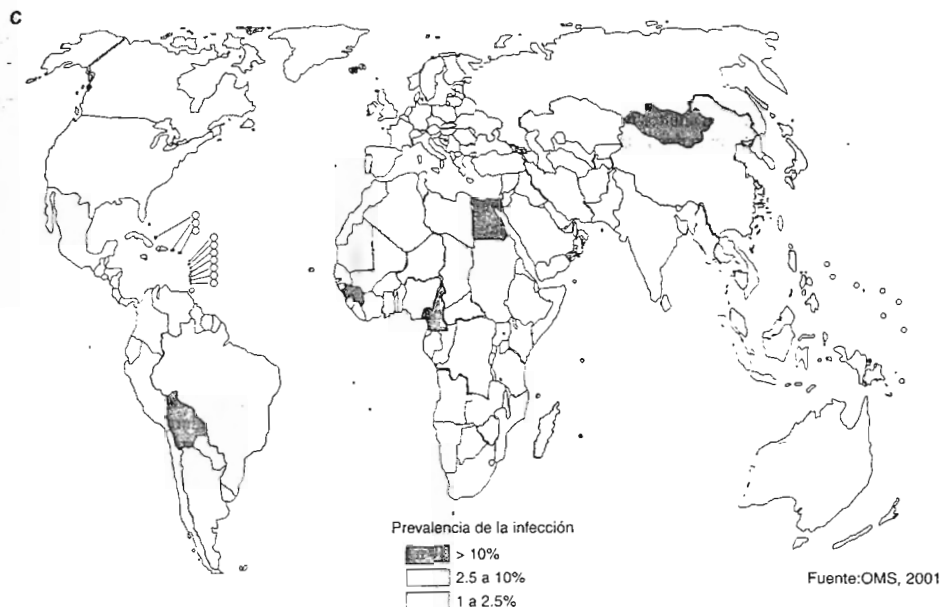


Figura 35-11. (continuación) Distribución mundial en 2001 de virus de hepatitis que causan enfermedad humana. (C) Virus de hepatitis C. (Fuente, Organización Mundial de la Salud, 2001.)

cuidado neonatal intensivo y entre personal militar. La manera más probable de transmisión en estas condiciones es la ruta fecal-oral a través de estrecho contacto personal. Las muestras de heces podrían ser infecciosas hasta por dos semanas antes a dos semanas después del inicio de la ictericia.

La infección por el VHA tiene lugar en la primera infancia, en condiciones de hacinamiento y falta de higiene; en estas circunstancias la mayoría de los niños ya son inmunes alrededor de los 10 años de edad. La enfermedad clínica es poco común en los lactantes y niños de corta edad; la enfermedad es más frecuente en los niños de mayor edad, adolescentes y adultos; con tasas mayores en el grupo de 5 a 14 años de edad. En los adultos, la proporción entre casos anictéricos e ictericos es alrededor de 1:3; en los niños puede aumentar hasta 12:1. Sin embargo, la excreción fecal del antígeno del RNA y del VHA persiste durante más tiempo en los jóvenes en comparación con los adultos.

Una característica notable son las epidemias recidivantes. Las epidemias súbitas y explosivas de hepatitis tipo A generalmente se deben a la contaminación con materia fecal de una fuente única (p. ej., agua potable, alimento o leche). El consumo de ostras crudas o de almejas cocidas de manera inapropiada, procedentes de aguas contaminadas con aguas negras, también ha producido brotes de hepatitis. El brote más grande de este tipo se presentó en Shanghai en 1988, cuando más de 300 000 casos de hepatitis A se atribuyeron al consumo de almejas crudas recolec-

tadas en aguas contaminadas. En 1997, en EUA se presentó un brote multiestatal cuyo origen fueron alimentos contaminados, aparentemente se trataba de fresas congeladas.

Otras posibles fuentes de infección son los primates no homínidos. Se han presentado más de 35 brotes en los que primates, casi siempre chimpancés, infectaron a los humanos en estrecho contacto con ellos.

El VHA rara vez se transmite por uso de agujas y jeringas contaminadas o por transfusión de sangre. La hepatitis A relacionada con transfusión es rara, puesto que la etapa virémica de la infección tiene lugar durante la fase prodrómica y su duración es breve; en la sangre los títulos virales son bajos y no hay estado de portador. Sin embargo, en 1996 en un informe se comprobó la transmisión del VHA a hemofílicos a través de concentrados de factor de la coagulación. Hay poca evidencia de la transmisión del VHA por exposición a la orina o las secreciones nasofaríngeas de los pacientes infectados. La hemodiálisis no desempeña función alguna en la propagación de la hepatitis A entre los pacientes o el personal médico.

En EUA 33% de las personas posee anticuerpos contra el VHA. La prevalencia de anticuerpos anti-VHA está en interrelación directa con la edad: 10% para menores de 10 años; 18% para el grupo de edad de 20 a 29 años; 49% para aquellos entre 40 a 49 años de edad; y 75% para los mayores de 70 años. Hay una mayor prevalencia en los grupos de menor nivel socioeconómico.

B. Hepatitis B

El VHB se distribuye en todo el mundo. El modo de transmisión y la respuesta a la infección varían según la edad en el momento de la infección (cuadro 35-6). La mayoría de las personas infectadas cuando eran lactantes desarrollan infección crónica. Cuando son adultos pueden sufrir enfermedad hepática y se encuentran en gran riesgo de desarrollar carcinoma hepatocelular. Existen más de 250 millones de portadores en el mundo, cerca de un millón vive en EUA: 25% de los portadores desarrolla hepatitis crónica activa. En todo el mundo se atribuyen un millón de muertes al año a la enfermedad hepática y al carcinoma hepatocelular vinculados con el VHB.

La infección por VHB no muestra tendencia estacional y tampoco mayor predilección por algún grupo de edad, aunque hay grupos definidos de mayor riesgo como adictos a drogas parenterales, personas alojadas en instituciones, personal de atención a la salud, pacientes sometidos a múltiples transfusiones sanguíneas, pacientes con trasplante de órgano, pacientes de hemodiálisis y personal que los atiende, personas muy promiscuas y lactantes recién nacidos de madres con hepatitis B. A partir de la detección obligatoria del HBsAg en los donadores de sangre, el número de casos de ictericia por hepatitis relacionada con transfusión se redujo sustancialmente. Muchas personas se han infectado con jeringas, agujas o bisturís esterilizados de manera inapropiada e incluso por tatuajes o perforación del lóbulo de la oreja. La proporción estimada entre las infecciones anictéricas y las ictericia puede ser hasta de 4:1.

Hay otros medios para la transmisión de la hepatitis B. Se puede detectar el HBsAg en saliva, lavado nasofaríngeo, semen, líquido menstrual y secreciones vaginales, así como en sangre. Además puede presentarse la transmisión de los portadores a los contactos cercanos por vía oral o mediante contacto sexual u otra exposición íntima. Existe evidencia particularmente importante de la transmisión a los compañeros homosexuales y heterosexuales que mantienen una relación prolongada por parte de las personas con enfermedad subclínica y portadoras del HBsAg. No se ha comprobado la transmisión por la ruta fecal-oral. Si recordamos que pueden existir más de 1 000 millones de viriones por mililitro de sangre en los portadores positivos al HBsAg, y que el virus es resistente a la desecación, debemos asumir que pueden ser infectantes todos los líquidos corporales de los pacientes con infección por VHB. La infección subclínica es común, y estas infecciones no identificadas representan el principal peligro para el personal de los hospitales.

El personal de atención a la salud (cirujanos, patólogos y otros médicos, odontólogos, enfermeras, técnicos de laboratorio y el personal del banco de sangre) tienen mayor incidencia de hepatitis y prevalencia del HBsAg o del anticuerpo anti-HBs detectables, en comparación con las personas no expuestas ocupacionalmente a los pacientes o a los productos de la sangre. Aún debe determinarse el riesgo que estos portadores del HBsAg aparentemente sanos (sobre todo cirujanos, médicos y dentistas) representan para el paciente bajo su cuidado, pero probablemente es pequeño.

Las infecciones por hepatitis B son comunes en los pacientes y el personal de las unidades de hemodiálisis. Los contactos en la familia también representan un riesgo im-

portante. Hasta 50% de los pacientes de diálisis renal que contraen hepatitis B pueden convertirse en portadores crónicos del HBsAg, en comparación con 2% del grupo de personal, lo cual subraya la diferencia en la respuesta inmunitaria del huésped. Los contactos familiares también representan riesgo elevado.

El periodo de incubación de la hepatitis B es de 50 a 180 días, con un promedio entre 60 y 90 días. Al parecer varía con la cantidad de VHB y la vía de entrada; es prolongado en los pacientes con poca cantidad de virus o infectados por vía no percutánea.

C. Hepatitis C

La infección por el VHC está muy extendida por todo el mundo. En 1997 la OMS estimó que cerca de 3% de la población mundial está infectada, con subgrupos de población en África que muestran tasas de prevalencia tan grandes como 10%. Otras regiones de gran prevalencia se encuentran en Sudamérica y Asia. Se estiman en una cifra mayor de los 170 millones a los portadores crónicos en todo el mundo en riesgo de desarrollar cirrosis hepática, cáncer de hígado o ambas, de los cuales más de 3 millones se encuentran en EUA.

VHC se transmite principalmente a través de la exposición percutánea directa a sangre contaminada, aunque en 10 a 15% de los casos la fuente del VHC no se puede identificar. En orden regularmente decreciente para la prevalencia de la infección, están los adictos a drogas intravenosas (80%), hemofílicos tratados con productos de factor coagulante antes de 1987, receptores de transfusiones de donadores VHC-positivos, pacientes con hemodiálisis crónica (10%), personas que realizan prácticas sexuales de alto riesgo y trabajadores al cuidado de la salud (1%). El virus puede transmitirse de la madre al recién nacido, pero esto no es tan frecuente como con el VHB. El VHC se encuentra en la saliva de más de un tercio de pacientes con coinfección por VHC y virus de inmunodeficiencia humana (VIH). El VHC ha sido transmitido mediante las preparaciones de inmunoglobulina intravenosa disponibles en el comercio, incluyendo un brote acontecido en EUA durante 1994. La población de Egipto posee una alta prevalencia de VHC (alrededor de 20%). La transmisión de VHC se ha ligado con un intento (desde 1950 hasta 1980) realizado para tratar la enfermedad parasitaria equistosomiasis mediante una terapia que consistía en inyecciones múltiples, generalmente utilizando agujas recicladas o mal esterilizadas. En algunos países, la infección por VHC se relaciona con prácticas de medicina tradicional y curandería.

El periodo de incubación promedio para VHC es de 6 a 7 semanas. El tiempo promedio desde la exposición hasta la seroconversión es de 8 a 9 semanas, y alrededor de 90% de los pacientes resultan anti-VHC-positivos a los cinco meses.

D. Hepatitis D (agente delta)

El VHD se encuentra en todo el mundo, pero con distribución no uniforme. Su mayor prevalencia se ha informado en Italia, Medio Oriente, Asia Central, África Occidental y Sudamérica. El VHD infecta a todos los grupos de edad. Están en gran riesgo las personas a quienes se han administrado múltiples transfusiones y los adictos a las drogas intravenosas, así como sus contactos íntimos.

Se cree que la ruta de transmisión primaria es similar a la de VHB, aunque el VHD no parece transmitirse por vía sexual. La infección depende de la replicación del VHB, puesto que este virus suministra una envoltura de HBsAg para el VHD. El periodo de incubación varía de 2 a 12 semanas y es más breve en los portadores de VHB sobreinfectados con el agente, en comparación con las personas susceptibles infectadas simultáneamente con VHB y VHD. El VHD puede transmitirse en el periodo perinatal, pero por fortuna no es prevalente en las regiones del mundo (como Asia) donde se presenta con frecuencia la transmisión perinatal del VHB.

Se han identificado dos patrones epidemiológicos de la infección δ . En los países mediterráneos, la infección δ es endémica en las personas con hepatitis B y se estima que la mayor parte de las infecciones se transmite por contacto íntimo. En las regiones no endémicas, como EUA y el norte de Europa, la infección δ está confinada a las personas expuestas con frecuencia a sangre y productos sanguíneos, principalmente los adictos a drogas y los hemofílicos.

La hepatitis δ puede presentarse en brotes explosivos y afecta a grupos localizados de portadores de hepatitis B. Brotes graves de hepatitis δ , con frecuencia fulminante y crónica, se han presentado durante decenios en las poblaciones aisladas de las cuencas del Orinoco y el Amazonas en Sudamérica. En EUA se ha observado que el VHD participa en 20 a 30% de los casos de hepatitis B crónica, de exacerbaciones agudas de hepatitis crónica B y de hepatitis fulminante; y 3 a 12% de los donadores de sangre con HBsAg en suero poseen anticuerpos al VHD. La hepatitis δ no es una enfermedad nueva, puesto que lotes de globulina preparados de plasma recolectado en EUA hace más de 40 años contienen anticuerpos al VHD.

Tratamiento

El tratamiento de los pacientes con hepatitis es de apoyo y está dirigido a permitir que el daño hepatocelular se resuelva y repare por sí mismo. Sólo el VHB y el VHC tienen tratamientos específicos.

En la actualidad la única terapéutica con utilidad demostrada en el tratamiento de pacientes con infección crónica por VHB o VHC es el interferón α recombinante. No todos quienes respondieron clínica y bioquímicamente mostraron mejoría histológica: muchos recayeron después de interrumpir el tratamiento. Sólo 35% de los pacientes con infecciones crónicas por VHB tienen remisiones de larga duración, y cerca de 25% de quienes padecen infección crónica por VHC tienen una respuesta sostenida.

Varios antivirales se utilizan para tratar las infecciones crónicas por hepatitis. La lamivudina, un inhibidor de la transcriptasa inversa (cuadro 30-6), reduce la concentración del DNA del VHB, pero en la mayoría de los pacientes se reinicia la replicación del virus al detener el tratamiento y los virus mutantes resistentes son seleccionados. La terapia combinada de interferón α y ribavirina contra la hepatitis crónica C proporciona un índice de respuesta sostenida de hasta 50%, aunque esta terapia es menos exitosa en pacientes con genotipo 1. Los corticosteroides han demostrado ser ineficaces en el tratamiento de la hepatitis viral.

El trasplante hepático ortotópico es un tratamiento para la hepatitis crónica B y C y daño hepático de etapa terminal. Sin embargo, el riesgo de reinfección en el injerto es por lo menos 80% con VHB y 50% con VHC.

Prevención y control

Se dispone de vacunas virales y preparaciones de inmunoglobulina protectora contra el VHA y el VHB. No existe en la actualidad ningún tipo de reactivo para evitar las infecciones por VHC.

A. Precauciones universales

Procedimientos sencillos en el área de trabajo pueden limitar el riesgo de infección para los trabajadores de la salud, el personal de laboratorio y otros. Con este criterio, toda sangre o líquido corporal y los materiales contaminados con ambos se tratan como infectantes para VIH, VHB, VHC y otros patógenos de origen sanguíneo. Las exposiciones que podrían poner en riesgo de infección a los trabajadores son lesión percutánea (p. ej., pinchazo de aguja) o contacto con la membrana mucosa o piel no intacta (p. ej., agrietada, cortaduras, dermatitis) con sangre, tejido u otros líquidos que tienen la posibilidad de infectarse. Se han diseñado métodos para evitar el contacto con estas muestras. Los ejemplos de las precauciones específicas incluyen lo siguiente: emplear guantes cuando se maneja material potencialmente infectante; usar vestimenta protectora y retirarla antes de abandonar el área de trabajo; también se deben usar mascarilla y protectores de los ojos siempre que constituyan un riesgo las salpicaduras o las gotas de material infectante; sólo se deben emplear agujas desechables; las agujas deben desecharse directamente en envases especiales, sin recubrir las superficies de trabajo deben descontaminarse con el empleo de una solución de cloro blanqueador y el personal de laboratorio abstenerse de pipetear con la boca, de comer, beber y fumar en el área de trabajo. Los objetos e instrumentos metálicos pueden desinfectarse en autoclave o por exposición a óxido de etileno gaseoso.

B. Hepatitis A

Las vacunas de formalina inactivadas para el VHA, elaboradas a partir de virus adaptados en cultivos de células, fueron autorizadas en EUA en 1995. Las vacunas son seguras, eficaces y se recomiendan para su empleo en las personas mayores de dos años de edad. En tanto se inmuniza a todos los grupos susceptibles en riesgo, es necesario recalcar la prevención y el control de la hepatitis A mediante la interrupción de la cadena de transmisión y el empleo de la inmunización pasiva.

La aparición de la hepatitis en campamentos o instituciones con frecuencia indica condiciones sanitarias deficientes e higiene personal inadecuada. Las medidas de control se dirigen a evitar que los individuos contaminen con materia fecal los alimentos, el agua y otras fuentes. La higiene razonable, como el lavado de manos, el empleo de platos y utensilios desechables para comer y el empleo de hipoclorito de sodio al 0.5% (p. ej., cloro blanqueador en dilución 1:10) como desinfectante, es indispensable para prevenir la propagación del VHA durante la fase aguda de la enfermedad.

La inmunoglobulina (γ) (IG) se prepara a partir de grandes reservas de plasma de adultos normales y confiere protección pasiva a casi 90% de las personas expuestas cuando se administra en la primera o segunda semanas de la exposición a la hepatitis A. Su valor profiláctico disminuye con el tiempo, y no está indicada su administración después de dos semanas de la exposición o luego de iniciados los síntomas clínicos. En las dosis generalmente prescritas, la IG no evita la infección sino más bien la hace leve o subclínica y permite que se desarrolle la inmunidad activa. La vacuna al VHA produce inmunidad más duradera y debe reemplazar el uso de la IG.

C. Hepatitis B

Desde 1982 se encuentra disponible una vacuna para la hepatitis B. La vacuna inicial se preparó al purificar el HBsAg vinculado con las partículas de 22 nm de portadores sanos positivos al HBsAg y al tratar las partículas con inactivadores de virus (formol, urea, calor). Los anticuerpos al antígeno α , un antígeno común a todos los subtipos, confieren la protección. Las preparaciones que contienen partículas intactas de 22 nm han mostrado gran eficacia para reducir la infección por VHB. Aunque las vacunas derivadas de plasma aún se encuentran en uso en ciertos países, en EUA se han sustituido con vacunas derivadas del DNA recombinante. Éstas consisten en HBsAg producido por un DNA recombinante en células de levaduras o en líneas continuas de células de mamífero. El HBsAg expresado en las levaduras forma partículas de 15 a 30 nm de diámetro, con las características morfológicas de los antígenos de superficie libres en el plasma, no obstante que el antígeno polipeptídico producido por las levaduras recombinantes no está glucosilado. La vacuna elaborada con este material purificado presenta una potencia similar a la de la vacuna elaborada a partir del antígeno derivado del plasma.

En la actualidad, la Organización Mundial de la Salud, los *Centers for Disease Control and Prevention* y el *Advisory Committee on Immunization Practices* recomiendan la profilaxis antes de la exposición para todos los grupos en riesgo con una vacuna de hepatitis B disponible en el comercio. En EUA, la vacuna VHB se recomienda para todos los niños como parte de su esquema regular de inmunizaciones.

Los grupos con inmunosupresión, como los pacientes de hemodiálisis, aquellos a quienes se administra quimioterapia contra el cáncer, o los infectados con VIH, responden a la vacunación en forma más limitada que las personas sanas.

Algunos estudios han demostrado eficacia de la inmunización pasiva con inmunoglobulina específica de la hepatitis B (HBIG), si se administra poco después de la exposición. HBIG no se recomienda para la profilaxis antes de la exposición, porque la vacuna VHB se encuentra disponible y es efectiva. Las personas expuestas por vía percutánea o por contaminación de las superficies mucosas al VHB deben recibir de inmediato HBIG y vacuna HBsAg administradas simultáneamente en diferentes sitios para proporcionar protección inmediata con los anticuerpos adquiridos en forma pasiva y seguidos por la inmunidad activa generada por la vacuna.

No se ha comprobado que la inmunoglobulina aislada del plasma por el método de fraccionamiento con etanol

frio transmita VHB, VHA o VIH, aunque en 1994 esta preparación transmitió VHC en EUA. Las inmunoglobulinas preparadas por otros métodos fuera de EUA se han implicado en brotes de hepatitis B y C.

Las mujeres portadoras de VHB, que contraen hepatitis B durante su embarazo, pueden transmitir la enfermedad a sus productos. Está comprobada la eficacia de la vacuna de la hepatitis B y de la HBIG para prevenir la hepatitis B en los lactantes nacidos de madres VHB positivas. La disminución en el costo de la vacuna en los programas de salud pública ha facilitado la vacunación de los recién nacidos en las regiones de gran endemicidad. El costo elevado de las HBIG excluye su empleo en la mayor parte de los países.

Los pacientes con hepatitis aguda tipo B generalmente no necesitan ser aislados, siempre y cuando se observen en forma estricta las precauciones con la sangre y el instrumental, tanto en la atención general del paciente como en los laboratorios. Puesto que el cónyuge y los contactos íntimos de las personas con hepatitis aguda tipo B se encuentran en riesgo de contraer hepatitis clínica tipo B, se les debe informar acerca de las prácticas que pueden aumentar el riesgo de infección o de transmisión. No hay evidencia de que los portadores asintomáticos HBsAg positivos, que manejen alimentos, constituyan un riesgo a la salud pública general.

D. Hepatitis C

No existe una vacuna contra la hepatitis C. Las medidas de control se enfocan en actividades de prevención para reducir riesgos de contraer el VHC, e incluyen la detección y el seguimiento en sangre, plasma, tejidos orgánicos y donadores de semen, así como la inactivación del virus de productos derivados del plasma; asesoría y consejo a personas con prácticas sexuales o uso de drogas de alto riesgo; implantación de prácticas para control de la infección en hospitales, laboratorios, consultorios, etc.; y educación a profesionales y al público en general.

E. Hepatitis D

La hepatitis delta puede prevenirse con la vacunación de las personas susceptibles al VHB mediante vacuna de hepatitis B. Sin embargo, la vacunación no protege a los portadores de hepatitis B contra la sobreinfección por VHD.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Una mujer de 24 años de edad de la ciudad de Nueva York es admitida al hospital por presentar ictericia. En el examen médico se encontró que tiene una infección por virus de hepatitis C. El factor de riesgo principal para infección por VHC en EUA es:
 - Tatuajes
 - Uso de una droga inyectada
 - Transfusión de sangre
 - Actividad sexual
 - Trabajar en ocupaciones de cuidado de la salud
- ¿Cuál de las siguientes exposiciones presenta un riesgo para infección por hepatitis?
 - Una enfermera sostiene una aguja mientras extrae insulina para administrársela a un paciente diabético infectado por VHB

- B. Al estar limpiando el baño, la piel intacta de una ama de casa tiene contacto con heces
- C. Un técnico de la sala de operaciones con las manos agrietadas y con heridas observa sangre bajo sus guantes después de ayudar en una operación de un paciente con infección por VHC
- D. Un niño bebe de la misma taza que su madre, quien tiene una infección por VHA
- E. Un cliente comió un emparedado que preparó un trabajador con una infección asintomática por VHB
3. Una epidemia de ictericia causada por el recién caracterizado virus de la hepatitis E tuvo lugar en Nueva Delhi. El virus de la hepatitis E:
- A. Se encuentra en roedores y cerdos
- B. Es una causa importante de hepatitis de origen sanguíneo
- C. Es la causa de una enfermedad que se asemeja a la hepatitis C
- D. Es capaz de establecer infecciones crónicas
- E. Se relaciona con un mayor riesgo de cáncer hepático
4. El virus de la hepatitis D (agente δ) se encuentra sólo en pacientes que tienen infección crónica o aguda con VHB. El virus de la hepatitis D:
- A. Es un mutante defectuoso de VHB
- B. Depende del antígeno superficial de VHB para la formación de virión
- C. Induce una respuesta inmune indistinguible de la que induce VHB
- D. Se relaciona con VHC
- A. Contiene un genoma de DNA circular
5. Una mujer de 23 años de edad planea un viaje de un año por Europa, Egipto y el sur del continente indio y recibe una vacuna para hepatitis A. La vacuna de hepatitis A actual es:
- A. Una vacuna de virus atenuado vivo
- B. Una vacuna de DNA recombinante
- C. Una vacuna de virus inactivado por formalina
- D. Una vacuna subunitaria de glucoproteína de la envoltura
- E. Un poliovirus quimérico que expresa epítopos neutralizantes de VHA
6. Las siguientes afirmaciones acerca de la infección por VHC y la enfermedad hepática crónica relacionada en EUA son correctas excepto que:
- A. VHC es el causante de 40% de la enfermedad hepática crónica
- B. La enfermedad hepática crónica se manifiesta en la mayor parte de las personas infectadas con VHC (70 a 90%)
- C. La enfermedad hepática relacionada con VHC es la principal causa para el trasplante de hígado
- D. La viremia por VHC se presenta de forma transitoria durante las primeras etapas de la infección
- E. Los pacientes infectados con VHC tienen alto riesgo de cáncer hepático (5 a 20%)
7. Un hombre de mediana edad se queja de inicio agudo de fiebre, náuseas y dolor en el cuadrante abdominal superior derecho. Hubo ictericia, y se había observado orina oscura varios días antes. Un examen de laboratorio resultó positivo para anticuerpo de VHA IgM. El médico puede decirle al paciente que:
- A. Probablemente adquirió la infección de una transfusión reciente de sangre
- B. Es probable que desarrolle hepatitis crónica
- C. Tendrá alto riesgo de presentar carcinoma hepatocelular
- D. Será resistente a la infección con hepatitis E
- E. Podría transmitir la infección a los miembros de la familia por diseminación de persona a persona hasta por dos semanas
8. Varios virus distintos causan hepatitis. Una de las siguientes afirmaciones se aplica a los cuatro virus: VHA, VHC, VHD y VHE:
- A. Contiene un genoma de RNA de una sola hebra
- B. Se transmite sobre todo por la ruta parenteral
- C. Se transmite más que nada por la ruta fecal-oral
- D. Está relacionada con hepatitis fulminante
- E. Experimenta variación de secuencia durante la infección crónica
9. Una estudiante de 30 años de edad pasa a la sala de urgencias debido a fiebre y anorexia durante los tres días anteriores. Al parecer tiene ictericia. Su hígado está alargado e hipersensible. Un examen de laboratorio muestra alta concentración de aminotransferasas. La paciente informa que recibió la vacuna de hepatitis B hace dos años, pero no ha recibido la vacuna de hepatitis A. El resultado de sus pruebas serológicas de hepatitis son como sigue: negativo a VHA IgM, positivo a VHA IgG, negativo a HBsAg, positivo a HBsAb, negativo a HBeAb, positivo a VHC Ab. La conclusión más precisa es que probablemente:
- A. Tiene hepatitis A ahora, no ha sido infectada con VHB y tuvo hepatitis C en el pasado
- B. Tiene hepatitis A ahora y ha sido infectada con VHB y VHC en el pasado
- C. Ha sido infectada con VHA y VHC en el pasado y en la actualidad tiene hepatitis B
- D. Ha sido infectada con VHA en el pasado, no ha sido infectada con VHB y en el presente tiene hepatitis C
- E. Ha sido infectada con VHA y VHC en el pasado, no ha sido infectada con HBV y en la actualidad tiene hepatitis E
10. Se encuentra que una enfermera de 36 años de edad es positiva tanto a HBsAg como a HBeAg. Lo más probable es que la enfermera:
- A. Tiene hepatitis aguda y sea infecciosa
- B. Tiene infecciones por VHB y VHE
- C. Tiene una infección crónica por VHB
- D. Ha eliminado una infección anterior con VHB
- E. Fue inmunizada antes con vacuna de VHB preparada a partir de portadores positivos a HBsAg

Respuestas: 1 = B; 2 = C; 3 = A; 4 = B; 5 = C; 6 = D; 7 = E; 8 = A; 9 = D; 10 = A.

REFERENCIAS

Advisory Committee on Immunization Practices: Prevention of hepatitis A through active or passive immunization. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1996; 45(RR- 15).

Alter MJ *et al.*: The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. N Engl J Med 1999;341:556.

- Alter MJ, Kunbert WL, Finelli L: Guidelines for laboratory testing and result reporting of antibody to hepatitis C virus. MMWR Recomm Rep 2003;52(RR-3):1.
- Gerin JL, Casey JL, Purcell RH: Hepatitis delta virus. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Hollinger FB, Emerson SU: Hepatitis A virus. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Hollinger FB, Liang TJ: Hepatitis B virus. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Major ME, Rehmann B, Feinstone SM: Hepatitis C viruses. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (VHC) infection and VHC-related chronic disease. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1998;47(RR-19).
- Updated U.S. Public Health Service guidelines for the management of occupational exposures to HBV, HCV, and HIV and recommendations for postexposure prophylaxis. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2001;50(RR-11).
- Weinbaum C, Lyster R, Margolis HS: Prevention and control of infections with hepatitis viruses in correctional settings. MMWR Recomm Rep 2003;52(RR-1):1.

Picornavirus (grupos enterovirus y rinovirus)

Los **picornavirus** representan una vasta familia de virus respecto del número de miembros, pero una de las más pequeñas en términos del tamaño y complejidad del virión. Incluyen dos grupos principales de patógenos humanos: **enterovirus** y **rinovirus**. Los enterovirus son habitantes transitorios del aparato digestivo humano y se pueden aislar de la faringe o del intestino delgado. Los rinovirus se pueden aislar principalmente de la nariz y la faringe.

Muchos picornavirus causan enfermedades en humanos, que varían desde parálisis graves hasta meningitis aséptica, pleurodinia, miocarditis, lesiones cutáneas vesiculares y exantemáticas, lesiones mucocutáneas, enfermedad respiratoria, enfermedad febril indiferenciada, conjuntivitis y enfermedad grave generalizada en los lactantes. Sin embargo, la infección subclínica es bastante más común que la enfermedad clínicamente manifiesta. Es difícil establecer la etiología, puesto que diferentes virus pueden producir el mismo síndrome; el mismo picornavirus puede causar más de un solo síndrome y algunos síntomas clínicos no se pueden distinguir de los producidos por otros tipos de virus. La enfermedad más grave causada por los enterovirus de cualquier tipo es la poliomielitis.

En la actualidad se lleva a cabo un esfuerzo mundial orientado a la erradicación total de la poliomielitis.

PROPIEDADES DE LOS PICORNAVIRUS

Las propiedades importantes de los picornavirus se muestran en el cuadro 36-1.

Estructura y composición

El virión de enterovirus y rinovirus consta de una cápside de 60 subunidades, cada una de cuatro proteínas (VP1 a VP4), dispuestas con simetría icosaédrica alrededor de un genoma formado por una sola cadena de RNA con sentido positivo (figura 36-1). Los parechovirus son similares a estos virus, excepto que sus cápsides contienen sólo tres proteínas, ya que VP0 no se degrada a VP2 y VP4.

Por medio de estudios de difracción de rayos X, se han determinado las estructuras moleculares de poliovirus y rinovirus. Las tres proteínas virales de mayor tamaño, VP1 a VP3, tienen una estructura esencial muy similar, en la cual el esqueleto peptídico del asa de la proteína se vuelve sobre sí mismo para formar un barril de ocho tiras reunidas por puentes de hidrógeno (el barril β). La cadena de aminoácidos entre el barril β y las porciones terminales amino y carboxilo de la proteína contiene una serie de asas. Estas asas incluyen los principales sitios antígenicos sobre la superficie del virión, los cuales participan en la neutralización de la infección viral.

Existe una hendidura o depresión notable alrededor de cada vértice pentamérico sobre la superficie de la partícula viral. Se cree que el sitio de enlace del receptor utilizado para unir al virión a una célula huésped se localiza cerca del piso de la depresión. Esta localización presuntamente protege al sitio decisivo de adhesión a la célula de las variaciones estructurales influidas por la selección de anticuerpos en los huéspedes, puesto que la hendidura es demasiado

**Cuadro 36-1. Propiedades importantes
de los picornavirus**

Virión: icosaédrico, 28 a 30 nm de diámetro, contiene 60 subunidades
Composición: RNA (30%), proteína (70%)
Genoma: RNA de cadena sencilla, lineal, en sentido positivo, 7.2 a 8.4 kb de tamaño, PM 2.5 millones, infectante, contiene proteína unida al genoma (VPg)
Proteínas: cuatro polipéptidos principales escindidos a partir de una poliproteína precursora grande. Las proteínas de superficie VP1 y VP3 son sitios principales para unión de los anticuerpos. La proteína interna VP4 se relaciona con el RNA viral
Envoltura: ausente
Replicación: en el citoplasma
Características notables: familia constituida por muchos tipos de enterovirus y rinovirus que infectan humanos y animales inferiores; causan varias enfermedades que varían desde poliomielitis y meningitis aséptica hasta resfriado común

estrecha para permitir que las moléculas del anticuerpo penetren profundamente (figura 36-1).

El genoma de RNA varía de tamaño de 7.2 kb (rinovirus humano) a 7.4 kb (poliovirus, virus de la hepatitis A) a 8.4 kb (aftovirus). La organización del genoma es similar para todos (figura 36-2). El genoma está poliadenilado en el extremo 3' y posee una pequeña proteína viral codificada

(VPg) enlazada de manera covalente al extremo 5'. El RNA genómico de cadena positiva es infeccioso.

Los enterovirus son estables en pH ácido (3.0 a 5.0) durante 1 a 3 h, en tanto que los rinovirus son lábiles al ácido. Los enterovirus y algunos rinovirus se estabilizan con cloruro de magnesio contra la inactivación térmica. Los enterovirus presentan una densidad de flotación en cloruro

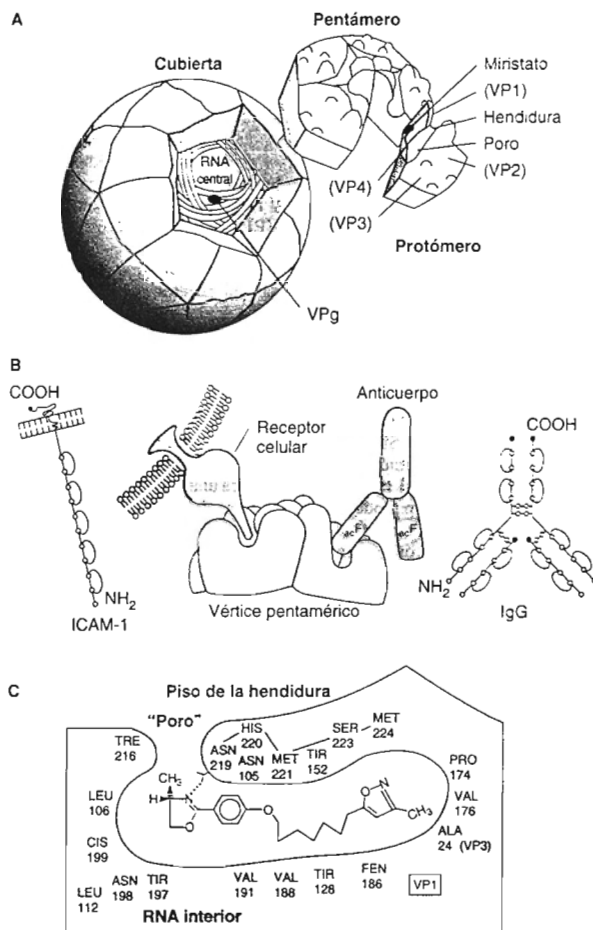


Figura 36-1. Estructura de un picornavirus típico. **A:** diagrama fragmentado mostrando la localización interna del genoma de RNA rodeado por una cápside compuesta de pentámeros de proteínas VP1, VP2, VP3 y VP4. Nótese la depresión en "hendidura" que rodea al vértice del pentámero. **B:** unión del receptor celular al piso de la hendidura. El principal receptor de rinovirus (molécula ICAM-1) posee un diámetro casi de la mitad de una molécula de anticuerpo IgG. **C:** localización de un sitio de enlace de fármacos en la VP1 de un rinovirus. El antiviral mostrado, el WIN 52084, evita la adherencia del virus porque deforma parte del piso de la hendidura. (Reproducido con autorización de Rueckert RR: Picornaviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven. 1996.)



Figura 36-2. Estructura del RNA del picornavirus y organización genética de su poliproteína (barra clara). El RNA está organizado como 5'-VPg-ntr-poliproteína-ntr-poli(A). ntr se refiere a las regiones no traducidas que flanquean a la poliproteína. L especifica una proteína líder observada en cardiovirus y aftovirus, pero no en los enterovirus y rinovirus humanos, o en el virus de la hepatitis A humana. P1, P2 y P3 se refieren a las proteínas precursoras escindidas mediante las proteinasas codificadas por el virus en cuatro, tres y cuatro productos finales, respectivamente. (Reproducido con autorización de Rueckert RR: Picornaviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

de cesio de alrededor de 1.34 g/mL; los rinovirus humanos, de casi 1.4 g/mL.

Clasificación

La familia *Picornaviridae* contiene seis géneros: *Enterovirus* (enterovirus), *Rhinovirus* (rinovirus), *Hepatovirus* (virus de la hepatitis A), *Parechovirus* (parechovirus), *Aphthovirus* (virus de la enfermedad de pezuña y de la boca) y *Cardiovirus* (cardiovirus). Los primeros cuatro grupos contienen patógenos humanos importantes.

Los enterovirus de origen humano incluyen los siguientes: 1) poliovirus, tipos 1 a 3; 2) coxsackievirus del grupo A, tipos 1 a 24 (no hay tipo 23); 3) coxsackievirus del grupo B, tipos 1 a 6; 4) echovirus, tipos 1 a 33 (no hay tipos 10, 22, 23 o 28); y 5) enterovirus, tipos 68 a 71 (cuadro 36-2). Desde 1969, a los nuevos tipos de enterovirus se les asigna un número en vez de subclasificarlos como coxsackievirus

o echovirus. Los nombres vernáculos de los enterovirus previamente identificados se retuvieron. También existen enterovirus en muchos animales, los cuales incluyen ganado vacuno, cerdos, monos y ratones.

Los rinovirus humanos incluyen más de 100 tipos antigénicos. Los rinovirus de otras especies de huéspedes incluyen los de caballos y del ganado vacuno.

El virus de la hepatitis A originalmente fue clasificado como enterovirus tipo 72, pero en la actualidad se le asigna un género separado. Se describió en el capítulo 35.

Se observó que los parechovirus, antes clasificados como echovirus 22 y 23, diferían significativamente de los enterovirus tanto en propiedades biológicas como en características moleculares, y se reasignaron dentro de un género nuevo (*Parechovirus*).

Otros picornavirus son los virus de la enfermedad de la pezuña y de la fiebre aftosa ganado bovino (*Aphthovirus*) y el virus de la encefalomiocarditis de los roedores (*Cardiovirus*).

Cuadro 36-2. Características de los picornavirus humanos

Propiedad	Enterovirus				Enterovirus ²	Parechovirus ³	Rinovirus
	Polio	Coxsackie		Echo ¹			
		A ¹	B				
Serotipos	1 a 3	1 a 24	1 a 6	1 a 33	68 a 71	1 a 2	más de 100
pH ácido (pH 3.0)	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Lábil
Densidad (g/mL)	1.34	1.34	1.34	1.34	1.34		1.4
Temperatura óptima para crecimiento	37 °C	37 °C	37 °C	37 °C	37 °C	37 °C	33 °C
Sitios comunes de aislamiento en humanos:							
Nariz	0	0	0	0	0	0	+
Faringe	+	+	+	+	+		+
Parte del intestino delgado	+	+	+	+	+	+	0
Infecta al ratón recién nacido ⁴	0	+	+	0			0

¹ Debido a las reclasificaciones, no existen los coxsackievirus A23 ni los echovirus tipo 10, 22, 23 o 28.

² Desde 1969, se asigna un número a los nuevos enterovirus en vez de subclasificarlos como coxsackievirus o echovirus.

³ Antes clasificados como echovirus tipos 22 y 23.

⁴ Existe alguna variabilidad en esta propiedad.

La diversidad de huéspedes de los picornavirus varía mucho de un tipo al siguiente, e incluso entre cepas del mismo tipo (cuadro 36-2). Muchos enterovirus (poliovirus, echovirus, algunos coxsackievirus) pueden crecer a 37 °C en células humanas y de monos; la mayor parte de los rinovirus sólo se puede recuperar en células humanas a 33 °C. Los coxsackievirus son patógenos para los ratones recién nacidos.

Replicación de los picornavirus

El ciclo de replicación de los picornavirus tiene lugar en el citoplasma de las células (figura 36-3). Primero, el virión se une a un receptor específico en la membrana plasmática. Los receptores para el poliovirus y el rinovirus humano son miembros de la superfamilia del gen de la inmunoglobulina, que incluye anticuerpos y algunas moléculas de adhesión a la superficie celular; por el contrario, los echovirus reconocen un miembro de la superfamilia de las integrinas de adhesión. No todos los rinovirus o echovirus utilizan el mismo receptor celular. La unión al receptor desencadena un cambio conformacional en el virión que da lugar a la liberación de RNA viral en el citosol de la célula. VPg se elimina del RNA viral cuando se asocia con los ribosomas. La traducción

se da por medio de un mecanismo independiente de la cubierta, usando el sitio interno de entrada del ribosoma (IRES, del inglés *internal ribosome entry site*) corriente abajo desde el extremo 5' del genoma viral. Esto evita la necesidad de contar con el complejo de factores de iniciación celular intacto (eIF4F), que requiere muchas moléculas de mRNA celular cubiertas. Una proteasa viral suele cortar al factor eIF4, lo que da lugar a finalizar la síntesis de proteína huésped y la traducción preferencial de RNA viral.

El RNA viral infectante se traduce en una poliproteína que contiene proteínas de la cubierta y proteínas esenciales para la replicación. Esta poliproteína se corta rápidamente en fragmentos por enzimas proteasas codificadas en ella (figura 36-4). La síntesis de nuevo RNA viral no puede iniciarse en tanto no se generen las proteínas de replicación codificadas por el virus, las cuales incluyen una RNA polimerasa dependiente del RNA. Se copia la cadena del RNA viral infectante, y esta cadena complementaria sirve como plantilla para la síntesis de nuevas cadenas de sentido positivo. Muchas cadenas positivas se generan de cada plantilla de sentido negativo. Algunas de las nuevas cadenas positivas se reciclan como plantillas para amplificar la reserva de la progenie del RNA; muchas cadenas positivas se empaquetan en los viriones.

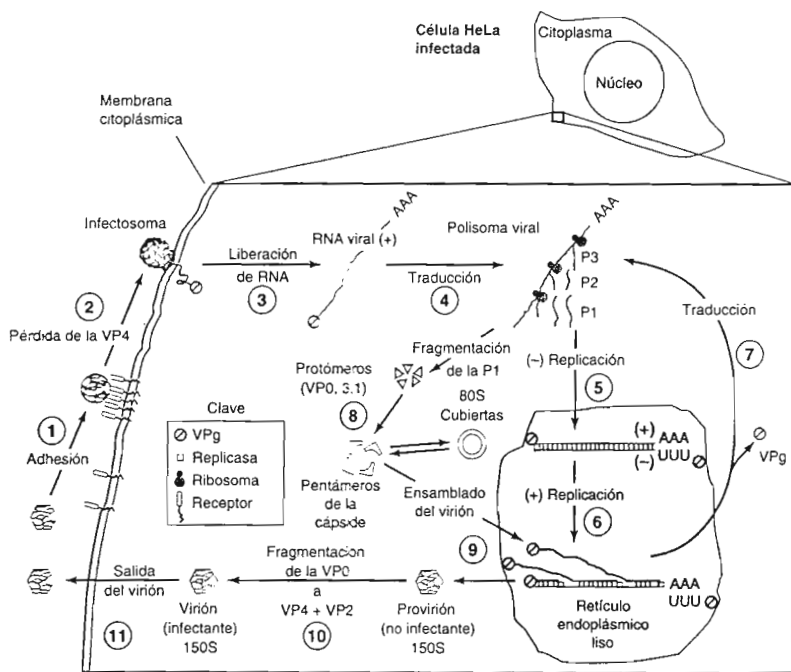


Figura 36-3. Revisión del ciclo de la infección por picornavirus. (Reproducido con autorización de Rueckert RR: Picornaviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*. 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

Figura 36-4. Presentación de la izquierda: RNA y cápsida y la proteína de la cubierta. La replicación.

La presentación de la izquierda: RNA y cápsida y la proteína de la cubierta. La replicación.

POLIO

La polio en su destrucción pasiva por el para este picornavirus.

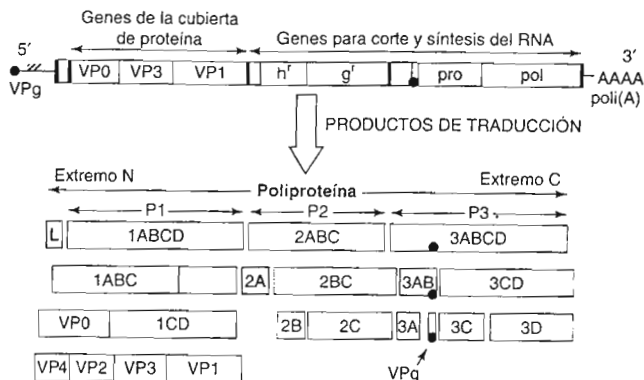


Figura 36-4. Organización y expresión del genoma del picornavirus. La barra rayada sobre la región 5' no traducida indica la presencia de una banda de ácido policitídico observada en los cardiovirus y aftovirus. La síntesis de la proteína avanza de izquierda (extremo N) a derecha (extremo C). Las funciones del crecimiento, o sea las proteínas necesarias para la síntesis del RNA y las proteinasas requeridas para desdoblar la poliproteína, se codifican corriente abajo a partir de la proteína de la cápside. Tres proteinasas codificadas por el virus cortan la poliproteína: la proteinasa M o de maduración, la proteinasa inicial 2A y la proteinasa 3C. La digestión de maduración (VP0 → VP4 + VP2) sólo tiene lugar después que el RNA se ha concentrado en la cubierta de proteína. La proteína 2A efectúa los primeros cortes de la poliproteína y la proteinasa 3C o una variante precursora, la 3CD, ejecutan los otros cortes. (Reproducido con autorización de Rueckert RR: Picornaviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

La maduración implica varios eventos de desdoblamiento. La proteína precursora de cubierta P1 (figura 36-4) se escinde para formar agregados de VP0, VP3 y VP1. Cuando se alcanza una concentración adecuada, estos "protómeros" se ensamblan en pentámeros que empaquetan RNA-VPg de cadena positiva para formar un "provirión". Los proviriones no son infectantes hasta que un corte final cambia la VP0 en VP4 y VP2. Cuando la célula huésped se desintegra libera partículas virales maduras. Para la mayor parte de los picornavirus el ciclo de replicación dura de 5 a 10 h.

GRUPO ENTEROVIRUS

POLIOMIELITIS

La poliomiélitis es una enfermedad infecciosa aguda que en su variante grave afecta al sistema nervioso central. La destrucción de las motoneuronas en la médula espinal ocasiona parálisis flácida. Sin embargo, casi todas las infecciones por poliovirus son subclínicas.

El poliovirus ha servido como picornavirus modelo para estudios de biología molecular de la replicación de los picornavirus.

Propiedades de los virus

A. Propiedades generales

Las partículas de poliovirus son enterovirus típicos (véase antes). Se inactivan cuando se calientan a 55 °C durante 30 minutos, pero el Mg^{2+} , 1 mol/L, evita esta inactivación. El poliovirus purificado se inactiva con cloro en concentración de 0.1 ppm, pero se requieren concentraciones de cloro mucho mayores para desinfectar las aguas negras contaminadas con el virus en suspensión fecal y en presencia de materia orgánica. Los poliovirus no se afectan por el éter o el desoxicolato sódico.

B. Susceptibilidad animal y crecimiento del virus

Los poliovirus poseen una variedad muy restringida de huéspedes. La mayor parte de las cepas infectan monos cuando se inoculan directamente en cerebro o médula espinal. Los chimpancés y monos *cinomolgus* también pueden infectarse por vía oral; en los chimpancés, la infección así producida generalmente es asintomática y los animales se convierten en portadores del virus en el intestino.

Casi todas las cepas pueden crecer en cultivo primario o en línea continua de células derivadas de varios tejidos humanos o de órganos de monos, como riñón, testículo o músculo, pero no en las células de animales inferiores.

El poliovirus requiere un receptor de membrana específico de primate para producir la infección y la ausencia de este receptor sobre la superficie de células que no son de primate las hace resistentes al virus. Esta restricción puede superarse

al introducir poliovirus en las células resistentes por medio de vesículas lipídicas sintéticas llamadas liposomas. Una vez dentro de la célula el poliovirus se replica normalmente. La introducción del gen receptor viral también convierte a las células resistentes en células susceptibles. Se han desarrollado ratones transgénicos que albergan el gen receptor primario y de esta forma son susceptibles a los poliovirus humanos.

C. Propiedades antigénicas

Existen tres tipos antigénicos de poliovirus.

Patogenia y patología

La boca es la puerta de entrada del virus y la multiplicación primaria tiene lugar en la bucofaringe o el intestino. El virus regularmente se encuentra en la faringe y en las heces antes del inicio de la enfermedad. Una semana después del inicio hay pocos virus en faringe, pero el virus se continúa excretando en las heces durante varias semanas, aunque en la sangre se observen grandes concentraciones de anticuerpos.

El virus puede encontrarse en la sangre de pacientes con poliomiélitis no parálisis y en monos en la fase preparalítica de la enfermedad. Al principio de la enfermedad aparecen anticuerpos contra el virus, en general antes de la parálisis.

Se cree que los virus primero se multiplican en las amígdalas, los ganglios linfáticos del cuello, las placas de Peyer y el intestino delgado. El sistema nervioso central puede entonces ser invadido por medio de la sangre circulante.

Los poliovirus pueden propagarse a lo largo de los axones de los nervios periféricos hacia el sistema nervioso central, donde continúan avanzando a lo largo de las fibras de las motoneuronas inferiores para afectar cada vez más la médula espinal o el cerebro. El poliovirus invade ciertos tipos de células nerviosas y en el proceso de multiplicación intracelular puede dañar o destruir por completo a dichas células.

El poliovirus no se multiplica *in vivo* en el músculo. Los cambios que tienen lugar en los nervios periféricos y en los músculos voluntarios son secundarios a la destrucción de las células nerviosas. Algunas células que pierden su función pueden recuperarla por completo. La inflamación se debe al ataque a las neuronas.

Además de los cambios patológicos en el sistema nervioso puede haber miocarditis, hiperplasia linfática y ulceración de las placas de Peyer.

Datos clínicos

Cuando una persona susceptible a la infección se expone al virus, la respuesta varía desde infección inaparente asintomática y enfermedad febril leve hasta parálisis grave y permanente. La mayor parte de las infecciones son subclínicas; sólo alrededor de 1% de las infecciones produce enfermedad clínica.

Por lo general, el periodo de incubación es de 7 a 14 días, pero puede variar de 3 a 35 días.

A. Poliomiélitis abortiva

Es la variante más común de la enfermedad. El paciente sólo presenta enfermedad mínima caracterizada por fiebre, malestar, mareo, cefalea, náusea, vómito, estreñimiento y

dolor faringeo en diferentes combinaciones. La recuperación ocurre en pocos días.

B. Poliomiélitis no parálisis (meningitis aséptica)

Además de los síntomas y signos listados en el párrafo anterior, el paciente con la forma no parálisis tiene rigidez y dolor en espalda y cuello. La enfermedad dura de 2 a 10 días; la recuperación es rápida y completa. En un pequeño porcentaje de casos la enfermedad avanza hasta la parálisis. El poliovirus sólo es uno de muchos virus que producen meningitis aséptica.

C. Poliomiélitis parálisis

La manifestación más importante es la parálisis flácida resultante del daño a la motoneurona inferior. Sin embargo, también pueden presentarse incoordinación secundaria a la invasión del tallo cerebral y espasmos dolorosos de los músculos no paralizados. La magnitud del daño varía mucho. La recuperación máxima comúnmente tiene lugar antes de seis meses, con parálisis residual mucho más perdurable.

D. Atrofia muscular progresiva pospoliomielítica

La recrudescencia de la parálisis y el desgaste muscular se observan en algunas personas decenios después de haber sufrido poliomiélitis parálisis. Aunque la atrofia muscular progresiva pospoliomielítica es rara, es un síndrome específico. No parece ser consecuencia de infección persistente, sino más bien resultado de cambios fisiológicos y de envejecimiento en los pacientes parálisis ya agobiados por la pérdida de las funciones neuromusculares.

Diagnóstico de laboratorio

El virus se puede recuperar del exudado faringeo poco después del inicio de la enfermedad y de frotis rectal o muestras de heces recolectadas durante periodos prolongados. No se conoce la existencia de portadores permanentes. El poliovirus se recupera raras veces del líquido cefalorraquídeo, a diferencia de algunos coxsackievirus y echovirus.

Las muestras deben mantenerse en congelación durante el tránsito hacia el laboratorio. Después del tratamiento con antibióticos se inoculan cultivos de células, éstos se incuban y observan. En 3 a 6 días aparecen efectos citopáticos. Los virus aislados se identifican y tipifican por neutralización con antisuero específico.

Se requieren muestras de suero por pares para demostrar un aumento en los títulos de anticuerpos durante el curso de la enfermedad. Estrictamente, sólo la primera infección con poliovirus produce respuestas fijadoras de complemento de tipo específico. Las infecciones subsecuentes con poliovirus heterotípico inducen anticuerpos contra el antígeno termolabile de grupo compartido por los tres tipos de poliovirus.

Inmunidad

Hay inmunidad permanente al tipo causante de la infección. Puede haber resistencia heterotípica de poca intensidad inducida por la infección, sobre todo entre poliovirus de los tipos 1 y 2.

La madre transfiere inmunidad pasiva al producto. Los anticuerpos maternos desaparecen gradualmente durante los primeros seis meses de vida. Los anticuerpos administrados pasivamente sólo duran de 3 a 5 semanas.

Poco después de la exposición al virus se forman anticuerpos neutralizantes del virus, con frecuencia antes del inicio de la enfermedad y aparentemente persisten de por vida. Su formación al principio de la enfermedad refleja el hecho de que la multiplicación viral tiene lugar en el cuerpo antes de la invasión del sistema nervioso. Como los virus en cerebro y médula espinal no son influidos por los grandes títulos de anticuerpos en sangre, la inmunización sólo tiene valor si precede al inicio de los síntomas referidos al sistema nervioso.

La proteína VP1 de superficie del poliovirus contiene varios epítomos neutralizantes del virus, cada uno puede contener menos de 10 aminoácidos. Cada epítopo puede inducir anticuerpos neutralizantes del virus.

Erradicación mundial

Una campaña importante de la Organización Mundial de la Salud está en curso para erradicar del mundo al poliovirus como se hizo para el virus de la viruela. En 1994 se dio la certificación al continente americano como libre del poliovirus salvaje, en 2000, y a la región del Pacífico oriental, y a Europa en 2002. El avance se hace de manera mundial, pero todavía se presentan varios miles de casos de polio al año, sobre todo en África y el sur del continente indio.

Epidemiología

La poliomiélitis ha tenido tres fases epidemiológicas: endémica, epidémica y la era de la vacuna. Las dos primeras reflejan patrones prevacunales. La explicación generalmente aceptada es que los mejores sistemas de higiene y de condiciones sanitarias en los climas más fríos promovieron la transición de la enfermedad parálisis endémica a la epidémica en esas sociedades.

Antes de que comenzaran los esfuerzos por erradicarla, la poliomiélitis se presentaba en todo el mundo: todo el año en los trópicos y durante el verano y el otoño en zonas templadas. En invierno eran raros los brotes.

La enfermedad se presenta en todos los grupos de edad, pero generalmente los niños son más susceptibles que los adultos debido a la inmunidad adquirida existente en la población adulta. En las regiones en desarrollo, donde las condiciones de vida favorecen la amplia diseminación del virus, la poliomiélitis es una enfermedad de la infancia ("parálisis infantil"). En los países desarrollados, antes de la vacuna, la distribución por edad varió y la mayoría de los pacientes fueron mayores de 5 años y 25% mayores de 15 años. La tasa caso-mortalidad es variable. Es más grande en los pacientes de mayor edad y puede alcanzar 5 a 10%.

Los humanos son el único reservorio conocido de la infección. En situaciones de hacinamiento con falta de higiene y condiciones sanitarias deficientes, en climas cálidos, donde casi todos los niños adquieren inmunidad desde el inicio de su vida, los poliovirus se conservan al infectar a una pequeña porción de la población. En las zonas templadas con mayores grados de higiene, las epidemias van seguidas por periodos de poca propagación del virus, en tanto

crece un número suficiente de niños susceptibles para suministrar una reserva para la transmisión en el área. Los virus pueden recuperarse de la faringe y el intestino de los pacientes y de los portadores sanos. La prevalencia de la infección es mayor entre los contactos en el hogar. Cuando se reconoce el primer caso en una familia, todas las personas susceptibles ya están infectadas, como resultado de la rápida diseminación del virus.

En los climas templados la infección con enterovirus, incluso poliovirus, se presenta principalmente durante el verano. El virus se encuentra en las aguas negras durante los periodos de gran prevalencia y puede servir como fuente de contaminación del agua empleada para beber, bañarse o de riego. Existe una correlación directa entre la falta de higiene, las malas condiciones sanitarias y el hacinamiento y la adquisición de la infección y de anticuerpos en edad temprana.

Prevención y control

Se dispone de vacunas de virus vivos y de virus muertos. La vacuna tratada con formol (Salk) se prepara de virus crecidos en cultivo de riñón de mono. En la serie primaria se recomiendan al menos cuatro inoculaciones en un periodo de 1 a 2 años. Para conservar la inmunidad se requieren inmunizaciones periódicas de refuerzo. Las vacunas de virus muertos inducen anticuerpos humorales, pero no inducen inmunidad local en intestino, de modo que el virus aún es capaz de multiplicarse en el intestino. Las vacunas orales contienen virus vivos atenuados crecidos en cultivo primario de células diploides humanas o de mono. La vacuna puede estabilizarse mediante cloruro de magnesio, de modo que no pierde su potencia durante 1 año un 4 °C y durante semanas a temperatura ambiente moderada (cerca de 25 °C). La vacuna no estabilizada debe mantenerse en congelación en tanto no se utilice.

La poliovacuna viva se multiplica, infecta y por tanto inmuniza. En el proceso se disemina en la comunidad progenie infectante del virus de la vacuna. Los virus, en particular los tipos 2 y 3, pueden mutar en el curso de su multiplicación en los niños vacunados. Sin embargo, sólo se han presentado casos sumamente raros de poliomiélitis parálisis en quienes se les administra vacuna polio oral o en sus contactos cercanos (no más de un caso relacionado con la vacuna por cada millón de personas vacunadas). La vacuna no sólo produce anticuerpos IgM e IgG en sangre, sino también anticuerpos IgA secretorios en el intestino, que entonces se hace resistente a la reinfección (véase figura 30-9).

Las vacunas de virus vivos y de virus muertos protegen el sistema nervioso central de la invasión subsecuente por el virus nativo. Sin embargo, el intestino desarrolla un grado mucho mayor de resistencia después de la administración de la vacuna de virus vivos, fenómeno que al parecer depende del grado de multiplicación del virus en el intestino más que de la cantidad de anticuerpos en el suero.

Un posible factor limitante para la vacuna oral es la interferencia. Si el intestino de un niño está infectado con otro enterovirus en el momento de administrar la vacuna, se puede bloquear el establecimiento de la infección por polio y de la inmunidad. Éste puede ser un problema importante en las regiones (sobre todo las tropicales) donde son comunes las infecciones con enterovirus.

En EUA generalmente se emplea la poliovacuna oral trivalente. Sin embargo, en el año 2000 el *Advisory Committee on Immunization Practices* recomendó utilizar únicamente la poliovacuna inactivada (cuatro dosis) para los niños de EUA. El cambio se decidió debido al riesgo actual tan reducido para adquirir la enfermedad relacionada con el virus silvestre, lo cual ha resultado en un progreso continuo en la erradicación del poliovirus. Se espera que este esquema reduzca la incidencia de la enfermedad relacionada con la vacuna en tanto que mantiene la inmunidad individual y de la población contra el poliovirus.

El embarazo no es indicación ni contraindicación para la inmunización requerida. No deben administrarse vacunas de virus vivos a las personas inmunodeficientes o inmunosuprimidas o sus contactos en el hogar. En estos casos sólo deben emplearse vacunas de virus muertos (Salk).

La globulina inmune puede suministrar protección durante unas cuantas semanas contra la enfermedad paralítica, pero no evita la infección subclínica. La inmunoglobulina es eficaz sólo si se administra poco antes de la infección; no tiene valor luego que se desarrollan los síntomas clínicos. No hay antivirales para el tratamiento de la infección por poliovirus. La cuarentena de los pacientes o de sus contactos íntimos no es eficaz para controlar la propagación de la enfermedad. Esto es comprensible en vista del gran número de infecciones inaparentes que se presentan.

Antes del inicio de las campañas de vacunación en EUA, se presentaban casi 21 000 casos de poliomielitis paralítica al año. En todos los países industrializados la enfermedad casi ha desaparecido. Sin embargo, hay necesidad de programas continuos de vacunación adecuada en todos los grupos de población para limitar la propagación de los virus nativos. Esto tiene particular importancia en los lugares en que se han introducido virus nativos procedentes de algunos países en desarrollo, donde todavía se presentan muchos casos.

La aplicación de la tecnología del DNA recombinante puede permitir el desarrollo de un poliovirus vivo que no pueda mutar para incrementar su neurovirulencia. Un avance tecnológico crítico fue la construcción de clones del cDNA infectantes, las cuales permitieron la manipulación de las secuencias de nucleótidos para generar poliovirus mutantes con alteraciones genómicas específicas y deseables. Se han identificado las secuencias en el genoma viral responsables de un fenotipo atenuado.

La vacuna con virus tipo 1, muy estable genéticamente, se ha empleado como vector para las secuencias de nucleótidos tipo 2 y tipo 3 que codifican regiones inmunógenas de sus proteínas VP1. Sin embargo, será difícil hacer pruebas de campo para este nuevo candidato a vacuna, puesto que sería necesario demostrar que la nueva vacuna produce menos de un caso asociados con vacuna por cada millón de personas susceptibles a quienes se administre.

COXSACKIEVIRUS

El coxsackievirus, un vasto subgrupo de los enterovirus, se divide en dos grupos, A y B, con diferente potencial patógeno para los ratones. Estos virus producen varias enfer-

medades en los humanos. La herpangina (faringitis vesicular), la enfermedad mano-pie-boca y la conjuntivitis hemorrágica aguda tienen como causa ciertos serotipos del grupo A; la pleurodinia (mialgia epidémica), la miocarditis, la pericarditis, la meningoencefalitis y la enfermedad grave generalizada del lactante se deben a ciertos grupos de coxsackievirus B. Además de éstos, algunos serotipos de los grupos A y B pueden dar lugar a meningitis aséptica, enfermedad febril respiratoria e indiferenciada, hepatitis y parálisis. En general, la parálisis producida por los enterovirus no polio es incompleta y reversible. Los coxsackievirus B son los agentes causales de cardiopatía viral identificados más comúnmente en humanos (cuadro 36-3). Los coxsackievirus tienden a ser más patógenos que los echovirus.

Propiedades del virus

A. Susceptibilidad animal y crecimiento del virus

Los coxsackievirus son muy infectantes para los ratones recién nacidos. Ciertas cepas (B1-6, A7, 9, 16 y 24) también crecen en cultivo de células de riñón de mono. Algunas cepas del grupo A crecen en amnios humano y en fibroblastos de pulmón embrionario humano. El tipo A14 produce lesiones parecidas a la poliomielitis en los ratones adultos y en los monos, pero en los ratones lactantes este tipo sólo produce miositis. Las cepas tipo A7 producen parálisis y lesiones graves del sistema nervioso central en monos.

Los virus del grupo A producen miositis muy extendida en el músculo esquelético de los ratones recién nacidos y producen parálisis flácida sin otras lesiones observables. Los virus del grupo B pueden producir miositis focal, encefalitis y, más típicamente, esteatitis necrosante. La constitución genética de las cepas puras de ratones determina la susceptibilidad de éstos al coxsackievirus B.

B. Propiedades antigénicas

En la actualidad se reconocen al menos 29 tipos inmunológicamente diferentes de coxsackievirus: 23 constituyen los tipos del grupo A, y seis, los del grupo B.

Patogenia y patología

Se han recuperado virus de la sangre en la etapa inicial de la infección natural en humanos y de la infección experimental en chimpancés. El virus también se encuentra en la faringe durante unos pocos días al principio de la infección y en las heces hasta por 5 a 6 semanas. La distribución de este virus es similar a la de otros enterovirus.

Datos clínicos

El periodo de incubación de los coxsackievirus varía de 2 a 9 días. Las manifestaciones clínicas de infección con varios coxsackievirus son diversas y pueden presentarse como entidades clínicas distintas (cuadro 36-3). Los ejemplos

Cuadro 36-3. Enterovirus humanos y síndromes clínicos comúnmente asociados¹

Síndrome	Coxsackievirus				Enterovirus tipos 68 a 71	Parechovirus tipos 1 a 2
	Poliovirus tipos 1 a 3	Grupo A tipos 1 a 24	Grupo B tipos 1 a 6	Echovirus tipos 1 a 34		
Neurológico						
Meningitis aséptica	1 a 3	Muchos	1 a 6	Muchos	71	1
Parálisis	1 a 3	7, 9	2 a 5	2, 4, 6, 9, 41, 30	70, 71	
Encefalitis		2, 5 a 7, 9	1 a 5	2, 6, 9, 19	70, 71	
Piel y mucosas						
Herpangina		2 a 6, 8, 10			71	
Enfermedad mano-pie-boca		5, 10, 16			71	
Exantemas		Muchos	5	2, 4, 6, 9, 11, 16, 18		
Cardíaco y muscular						
Pleurodinia (mialgia epidémica)			1 a 5	1, 6, 9		
Miocarditis, pericarditis			1 a 5	1, 6, 9, 19		1
Ocular						
Conjuntivitis hemorrágica aguda		24			70	
Respiratorio						
Restriado común		21, 24	1, 3, 4, 5	4, 9, 11, 20, 25		1
Neumonía			4, 5		68	1
Neumonitis del lactante		9, 16				
Edema pulmonar					71	
Gastrointestinal						
Diarrea		18, 20 a 22, 24 ²		Muchos ²		1
Hepatitis		4, 9	5	4, 9		
Otros						
Enfermedad febril indiferenciada			1 a 6			
Enfermedad generalizada de lactantes	1 a 3		1 a 5			
Diabetes mellitus			3, 4			

¹ Los ejemplos son generales. Otros tipos de enterovirus podrían tener relación con una enfermedad determinada.² Causalidad no establecida.

mostrados no incluyen todos; con un brote particular pueden relacionarse diferentes serotipos.

A. Neurológicos

La **meningitis aséptica** es causada por todos los tipos de coxsackievirus del grupo B y por muchos del grupo A, con mayor frecuencia A7 y A9. Son síntomas iniciales comunes fiebre, malestar, cefalea, náuseas y dolor abdominal. A veces la enfermedad avanza a debilidad muscular leve sugiriendo de poliomielitis paralítica. Los pacientes casi siempre se recuperan por completo de la paresia causada por virus que no son poliovirus.

B. Piel y mucosas

La **herpangina** es una faringitis febril viral severa. La causa son ciertos virus del grupo A (2 a 6, 8, 10). A pesar de su nombre, no tiene nada que ver con el herpesvirus. Hay ini-

cio súbito de fiebre y malestar faríngeo. Por lo general, la faringe se encuentra hiperémica y aparecen vesículas discretas características sobre la mitad posterior del paladar, la faringe, las amígdalas o la lengua. La enfermedad es autolimitada y más frecuente en niños pequeños.

La **enfermedad mano-pie-boca** se caracteriza por úlceras bucofaringeas y una erupción vesicular en palmas y plantas que puede propagarse a brazos y piernas. Las vesículas cicatrizan sin costra, lo que las diferencia clínicamente de las vesículas del herpesvirus y del virus de la viruela. Esta enfermedad se ha relacionado particularmente con el coxsackievirus A16, pero también se ha implicado al A5 y al A10. Pueden recuperarse virus no sólo de las heces y de la secreción faríngea, sino también del líquido vesicular. No debe confundirse con la enfermedad de pezuña y boca del ganado bovino causada por un picornavirus no infectante para los humanos.

C. Enfermedad cardíaca y muscular

La **pleurodinia** (también conocida como **mialgia epidémica** o enfermedad de Bornholm) tiene como causa los virus del grupo B. Comienza con fiebre y dolor torácico tipo punzante, generalmente de inicio súbito, pero en ocasiones precedidos por malestar, cefalea y anorexia. El dolor torácico puede localizarse en cualquier lado o debajo del esternón, se intensifica con el movimiento y puede durar desde dos días hasta dos semanas. Casi en la mitad de los casos se presenta dolor abdominal y en los niños éste puede ser la molestia principal. La enfermedad es autolimitada y la recuperación completa, aunque son comunes las recaídas.

La **miocarditis** es una enfermedad grave. Es una inflamación aguda del corazón o de las membranas que lo cubren (pericarditis). Las infecciones por coxsackievirus B son una de las causas de enfermedad miocárdica primaria en adultos y en niños. Alrededor de 5% de las infecciones sintomáticas por coxsackievirus inducen cardiopatía. La infección puede ser mortal en neonatos o causar daño cardíaco permanente a cualquier edad. Pueden presentarse infecciones persistentes del músculo cardíaco, perpetuando así la inflamación crónica. Existen algunos puntos de vista que sugieren que las infecciones por virus coxsackie B pueden desencadenar respuestas autoinmunes en el huésped que conducen a cardiomiopatías.

D. Ocular

La **conjuntivitis hemorrágica aguda** fue reconocida como enfermedad en 1969. Generalmente tiene como causa al enterovirus 70 (véase después), pero los grandes brotes también pueden deberse a una variante del coxsackievirus prototípico A24.

E. Infecciones respiratorias

Se han relacionado algunos coxsackievirus con el **catarro común**; entre éstos se encuentran los coxsackievirus A21, A24, B1 y B3 a B5.

F. Gastrointestinal

Aunque el aparato gastrointestinal es el sitio primario de la replicación del enterovirus, no producen enfermedad notable en ese sitio. Ciertos coxsackievirus del grupo A se han relacionado con **diarrea** en los niños, pero no se ha demostrado la causalidad.

G. Otros

La **enfermedad febril indiferenciada** es un brote agudo de duración breve que se presenta durante el verano o el otoño y no muestra características distintivas. Con frecuencia se aíslan de estos pacientes coxsackievirus del grupo B.

La **enfermedad generalizada del lactante** es una enfermedad muy grave en la cual el lactante se encuentra abrumado por infecciones virales simultáneas de múltiples órganos, incluso corazón, hígado y cerebro. La enfermedad puede seguir un curso clínico rápidamente mortal, o el paciente se recupera por completo. La causa son los coxsackievirus del grupo B. En los casos graves pueden presentarse miocarditis o pericarditis antes de los primeros ocho días de vida; puede ir precedida por un breve episodio de diarrea y anorexia. A veces la enfermedad se contrae a través de la placenta.

Los estudios serológicos sugieren un vínculo entre la **diabetes mellitus** tipo 1 con los coxsackievirus B. La hipótesis establece que el "mimetismo molecular" es la causa de que una respuesta autoinmunitaria inducida por un virus destruya las células β pancreáticas. Se han observado secuencias similares entre un tramo de aminoácidos en la proteína P2-C de los coxsackievirus B y la enzima glutamato descarboxilasa de las células β humanas (blanco conocido de la autoinmunidad en la diabetes tipo 1). Un concepto alternativo señala la activación "casual" de las células T por medio de la infección viral.

Hay cierta evidencia de una posible relación entre el **síndrome de fatiga crónica** y la infección con enterovirus, sobre todo por los coxsackievirus B. El paciente presenta fatiga incapacitante de duración prolongada sin causa física identificable. Sin embargo, no se ha confirmado esta etiología. Por último, el agente de la **enfermedad vesicular porcina** es un enterovirus antigénicamente relacionado con el coxsackievirus B5. El virus porcino también puede infectar a los humanos.

Diagnóstico de laboratorio

A. Recuperación del virus

El virus se aísla con facilidad del exudado faríngeo durante los primeros días de la enfermedad, y de las heces durante las primeras semanas. En las infecciones por coxsackievirus A21, la mayor cantidad de virus se encuentra en las secreciones nasales. En casos de meningitis aséptica se han recuperado cepas del líquido cefalorraquídeo y también del aparato digestivo. En casos de conjuntivitis hemorrágica se ha aislado virus A24 del exudado conjuntival, del exudado faríngeo y de las heces.

Se inoculan muestras en cultivo de tejidos y también a ratones lactantes. En cultivo de tejidos aparece un efecto citopático en 5 a 14 días. En los ratones lactantes generalmente aparecen signos de enfermedad en 3 a 8 días con las cepas del grupo A y en 5 a 14 días con las cepas del grupo B. El virus se identifica por las lesiones patológicas que produce y por medios inmunitarios. Debido a la dificultad de la técnica, el aislamiento del virus en ratones lactantes se intenta rara vez.

B. Serología

En el curso de la infección aparecen inicialmente anticuerpos neutralizantes, tienden a ser específicos para el virus infectante y persisten durante años. También pueden detectarse anticuerpos en suero y titularse con técnicas de inmunofluorescencia al utilizar como antígeno el cultivo de células infectadas sobre cubreobjetos. Las pruebas serológicas son difíciles de evaluar (debido a los múltiples tipos), a menos que se emplee en la prueba un antígeno aislado de un paciente específico o durante un brote epidémico.

C. Detección de ácido nucleico

Están en desarrollo métodos para la detección directa de enterovirus en muestras clínicas. Las pruebas de la reacción en cadena de la polimerasa para transcriptasa inversa pueden tener una reactividad amplia (detectar muchos serotipos) o más específicas.

Inmunidad

En los humanos se transfieren pasivamente de la madre al feto anticuerpos neutralizantes. Los adultos poseen anticuerpos contra más tipos de coxsackievirus que los niños, lo cual indica que son comunes los contactos múltiples con estos virus y que éstos aumentan con la edad.

Epidemiología

Los virus del grupo coxsackie se encuentran en todo el mundo. Se han aislado principalmente de heces humanas, exudado faríngeo, aguas negras y moscas. Los anticuerpos a varios coxsackievirus se encuentran en el suero recolectado de personas en todo el mundo y en la gammaglobulina recolectada.

Los tipos más frecuentes de coxsackievirus aislados en todo el mundo en un periodo de ocho años (1967 a 1974) fueron los tipos A9 y B2 a B5. En EUA, de 1993 a 1996, los coxsackievirus más comúnmente aislados fueron los tipos A9, B2 y B5. Sin embargo, en un año o región determinados, puede predominar otro tipo.

Los coxsackievirus se recuperan con mucha mayor frecuencia en verano y a principios del otoño. Los niños desarrollan anticuerpos en verano, lo cual indica infección por los coxsackievirus en dicho periodo. Estos niños muestran tasas de incidencia mucho mayores para la enfermedad febril menor aguda durante el verano que los niños quienes no desarrollan anticuerpos a los coxsackievirus.

La exposición de la familia es importante para contraer la infección por coxsackievirus. Una vez que el coxsackievirus entra en una casa, por lo general infecta a todas las personas susceptibles, aunque no todas desarrollan enfermedad clínica aparente.

En la herpangina sólo alrededor de 30% de las personas infectadas en su hogar desarrolla lesiones bucofaríngeas. Otros pueden presentar enfermedad febril leve sin lesión faríngea. Se han encontrado virus en 85% de los pacientes con herpangina, en 65% de sus vecinos, en 40% de los contactos en la familia y en 4% de todas las personas en la comunidad. Los coxsackievirus comparten muchas propiedades con los echovirus y los poliovirus. A causa de sus semejanzas epidemiológicas varios enterovirus pueden encontrarse juntos en la naturaleza, incluso en el mismo huésped humano o en la misma muestra de aguas negras.

Control

En la actualidad no se dispone de vacunas o antivirales para la prevención o el tratamiento de las enfermedades producidas por los coxsackievirus.

ECHOVIRUS

Los echovirus (del inglés, *enteric cytopathogenic human orphan viruses*) se reúnen en un solo grupo, puesto que infectan el intestino humano y debido a que pueden recupe-

rarse de los humanos sólo mediante inoculación de ciertos cultivos de tejidos. Se conocen más de 30 serotipos, pero no todos causan enfermedad humana. La meningitis aséptica, la encefalitis, la enfermedad febril con o sin erupción y el catarro común son algunas enfermedades que tienen como causa los echovirus.

Propiedades del virus

A. Crecimiento del virus

El cultivo en células de riñón de mono es el método preferido para aislar estos agentes. Algunos también se multiplican en células del amnios humano y en líneas de células como HeLa.

Al principio se distinguieron los echovirus de los coxsackievirus por su incapacidad para producir cambios patológicos en ratón recién nacido, pero el echovirus 9 puede causar parálisis en el ratón recién nacido. Por el contrario, las cepas de algunos tipos de coxsackievirus (especialmente A9) carecen de patogenicidad para los ratones y así se asemejan a los echovirus. Esta variabilidad de propiedades biológicas es la principal razón para no subclasificar los nuevos enterovirus como echovirus o coxsackievirus.

B. Propiedades antigénicas

Se han identificado más de 30 tipos antigénicos diferentes. Los diferentes tipos pueden separarse con base en pruebas cruzadas de neutralización. Existen variantes que no se comportan exactamente como los prototipos. Los intentos realizados para establecer un sistema de clasificación a través del análisis molecular aún no han generado un sistema compatible con los resultados serológicos.

Patogenia y patología

La patogenia de la infección intestinal es similar a la de otros enterovirus. Los virus pueden recuperarse de la faringe y las heces; en ciertos tipos relacionados con meningitis aséptica se ha recuperado el virus del líquido cefalorraquídeo.

Datos clínicos

Para establecer la interrelación etiológica del echovirus con la enfermedad se emplean los siguientes criterios: 1) es mucho mayor la tasa de recuperación de virus en los pacientes con la enfermedad que en las personas sanas de la misma edad y estrato socioeconómico quienes viven en la misma área y al mismo tiempo. 2) Se desarrollan anticuerpos contra el virus en el curso de la enfermedad. Si el síndrome clínico es causado por otros agentes conocidos, entonces la evidencia virológica o serológica debe ser negativa para la infección concurrente con dichos agentes. 3) El virus se aísla de líquidos o tejidos corporales que manifiestan las lesiones, por ejemplo, del líquido cefalorraquídeo en los casos de meningitis aséptica.

Muchos echovirus se han relacionado con meningitis aséptica. Las erupciones son comunes en los tipos 4, 9, 16 ("enfermedad exantemática de Boston") y 18. Las erupcio-

nes son más comunes en los niños pequeños. En ocasiones hay conjuntivitis, debilidad muscular y espasmo (tipos 6, 9 y otros). La diarrea infantil puede relacionarse con algunos tipos, pero no se ha establecido la causalidad. Para muchos echovirus (y algunos coxsackievirus) no se han definido las entidades patológicas.

Con la eliminación casi total de la poliomielitis en los países desarrollados, los síndromes del sistema nervioso central asociados con echovirus y coxsackievirus adquieren mayor importancia. Los últimos pueden producir secuelas neurológicas y daño mental en los niños menores de un año.

Diagnóstico de laboratorio

Es imposible diagnosticar la infección por echovirus en un caso individual con base en los datos clínicos. Sin embargo, deben considerarse los echovirus en las siguientes situaciones epidémicas: 1) brotes de meningitis aséptica en el verano; y 2) epidemias en el verano, sobre todo en niños pequeños, de una enfermedad febril con exantema.

El diagnóstico depende de las pruebas de laboratorio. El procedimiento preferido es el aislamiento del virus del exudado faríngeo, las heces y el frotis rectal; y en la meningitis aséptica, del líquido cefalorraquídeo. Ciertos echovirus aglutinan los eritrocitos del grupo humano O. Las pruebas serológicas son imprácticas, debido a los muchos tipos virales diferentes, excepto cuando se ha aislado un virus de un paciente o durante un brote de enfermedad clínica típica. Los anticuerpos neutralizantes o inhibidores de la hemaglutinación son específicos de tipo y pueden persistir por años.

Cuando se aísla un agente en cultivo de tejidos, se prueba contra diferentes mezclas de antisuero contra enterovirus. La determinación del tipo de virus presente se lleva a cabo mediante pruebas de inmunofluorescencia o pruebas Nt. Puede presentarse la infección simultánea con dos o más enterovirus.

Las pruebas de detección de ácido nucleico, como la reacción en cadena de la polimerasa, son más rápidas que el aislamiento del virus para diagnóstico. Aunque no se puede detectar el virus específico mediante la reacción en cadena de la polimerasa, suele no ser necesario determinar el serotipo específico del enterovirus transmisor de la infección asociada con una enfermedad.

Epidemiología

La epidemiología de los echovirus es similar a la de otros enterovirus. Se presentan en todas partes del mundo y se encuentran con más frecuencia en jóvenes que en viejos. En las regiones templadas la infección aparece principalmente en verano y otoño y es casi cinco veces más prevalente en los niños de familias de menor nivel socioeconómico que en quienes viven en circunstancias más favorables.

Los echovirus recuperados más comúnmente en todo el mundo en el periodo 1967 a 1974 fueron los tipos 4, 6, 9, 11 y 30. De 1993 a 1996, los tipos 6, 9, 11 y 30 fueron los echovirus aislados con mayor frecuencia en EUA y las enfermedades más frecuentemente observadas en los pacientes fueron la meningitis aséptica y la encefalitis. Sin

embargo, igual que todos los enterovirus, la diseminación de los diferentes serotipos puede presentarse en ondas.

Los estudios efectuados en las familias donde se introdujeron enterovirus demostraron la facilidad de propagación de estos agentes y la gran frecuencia de la infección en las personas quienes no han formado anticuerpos por exposiciones previas. Esto es verdad para todos los enterovirus.

La regla es una amplia diseminación. En una ciudad de 740 000 habitantes, durante el periodo en que se hospitalizaron 149 personas con enfermedad por echovirus 9, casi 6% de la población, o sea 45 000 personas, presentó enfermedad compatible.

Control

Para los niños pequeños se aconseja evitar el contacto con los pacientes afectados por enfermedad febril aguda, sobre todo si presentan exantema. El uso de inmunoglobulina en neonatos cuando se sospecha infección por enterovirus parece ser de valor limitado. No se dispone de antivirales o de vacunas para el tratamiento o la prevención de las enfermedades por echovirus.

OTROS TIPOS DE ENTEROVIRUS

Cuatro enterovirus (tipos 68 a 71) crecen en cultivo de riñón de mono y tres de ellos causan enfermedad en humanos.

El enterovirus 68 se ha aislado del aparato respiratorio de niños con bronquiolitis o neumonía.

El enterovirus 70 es la principal causa de conjuntivitis hemorrágica aguda. Se ha aislado de la conjuntiva de pacientes con esta notable enfermedad del ojo, la cual se presentó en modalidad de pandemia entre 1969 y 1971 en África y en el sureste de Asia. La conjuntivitis hemorrágica aguda inicia súbitamente con hemorragia subconjuntival, que varía desde pequeñas ptequias hasta grandes manchas que cubren la conjuntiva bulbar. La enfermedad es más común en adultos, con un periodo de incubación de un día y duración de 8 a 10 días. La regla es la recuperación completa. El virus es muy transmisible y se propaga con rapidez en condiciones de hacinamiento o falta de higiene. No hay tratamiento eficaz.

Se ha aislado enterovirus tipo 71 de pacientes con meningitis, encefalitis y parálisis similar a poliomielitis. Es una de las principales causas de enfermedad del sistema nervioso central, a veces mortal, en el mundo. En algunas regiones, particularmente en Japón y Suecia, el virus ha causado brotes de enfermedad mano-pie-boca y herpangina. En una epidemia en Taiwán en 1998, la complicación neurológica principal fue encefalitis del tallo cerebral, y la mayoría de las muertes se debieron a edema y hemorragia pulmonar.

ENTEROVIRUS EN EL AMBIENTE

El ser humano es el único reservorio conocido del grupo enterovirus humano. Estos virus generalmente se eliminan

durante periodos prolongados en las heces más que en secreciones del aparato digestivo superior. Por tanto, la contaminación fecal (manos, utensilios, alimentos, agua) es el camino común para la propagación del virus. En las aguas negras se encuentran enterovirus en cantidad variable. Éstas pueden ser una fuente de contaminación del suministro de agua para beber, bañarse, riego o recreación (figura 36-5). Los enterovirus sobreviven a la cloración y al tratamiento de las aguas negras practicados comúnmente, y en gran parte del mundo la gente vierte desperdicios no tratados o con tratamiento deficiente en las aguas naturales. Es difícil reconocer los brotes por enterovirus de origen hídrico y se ha demostrado que los virus pueden desplazarse grandes distancias desde la fuente de contaminación y conservar su infectividad. La adsorción al material orgánico y al sedimento protege al virus de la inactivación y ayuda a transportarlo. El filtrado del alimento por mariscos de concha (ostras y almejas) ha revelado que concentra virus del agua y, cuando se cocinan de manera inadecuada, pueden transmitir la enfermedad. Las normas bacteriológicas que emplean como indicadores el número de coliformes fecales para vigilar la calidad del agua probablemente no reflejan de manera apropiada el potencial de transmisión de la enfermedad viral.

GRUPO RINOVIRUS

Los rinovirus son los virus del catarro común. Son los agentes recuperados más comúnmente en personas con enfer-

medad respiratoria superior leve. Generalmente se aíslan en las secreciones nasales, pero también pueden encontrarse en secreciones faríngeas y bucales. Estos virus, al igual que coronavirus, adenovirus, enterovirus, virus parainfluenza y virus de la influenza, son causa de infecciones del aparato respiratorio superior, incluso del síndrome del catarro común.

Propiedades del virus

A. Propiedades generales

Los rinovirus son picornavirus similares a enterovirus, pero diferentes de éstos por su densidad de flotación en cloruro de cesio que es de 1.40 g/mL y por ser ácido lábiles. A pH 3.0 hay inactivación completa. Los rinovirus son más termoestables que los enterovirus y pueden sobrevivir durante días en el ambiente.

B. Susceptibilidad animal y crecimiento del virus

Estos virus sólo son infectantes para humanos, gibones y chimpancés. Crecen en algunas líneas de células humanas, incluso las líneas WI-38 y MRC-5. Para algunas cepas difíciles se requiere el cultivo en órganos de hurón y en el epitelio traqueal humano. La mayor parte crecen mejor a 33 °C, temperatura similar a la de la nasofaringe humana, que a 37 °C.

C. Propiedades antigénicas

Se conocen más de 100 serotipos. La determinación de nuevos serotipos se basa en la ausencia de reactividad cruzada en las pruebas Nt que utilizan antisuero policlonal.

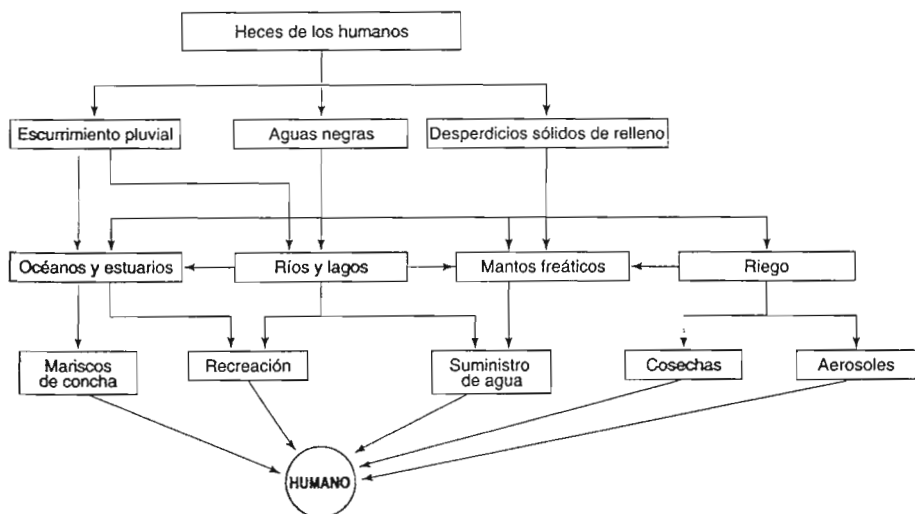


Figura 36-5. Rutas posibles de transmisión del virus entérico en el ambiente. (Reproducido con autorización de Melnick JL, Gerba CP, Wallis C: Viruses in water. Bull World Health Organ 1978;56:499.)

Patogenia y patología

El virus entra a través del aparato respiratorio superior. Los títulos altos de virus en las secreciones nasales, que pueden encontrarse a los 2 a 4 días después de la exposición, se relacionan con enfermedad importante. A partir de entonces los títulos virales descienden, aunque la enfermedad persiste. En algunos casos aún se detectan virus a las tres semanas. Existe una correlación directa entre la cantidad de virus en las secreciones y la gravedad de la enfermedad.

La replicación se limita a la superficie del epitelio de la mucosa nasal. La biopsia demuestra que los cambios histológicos se restringen a la submucosa y al epitelio superficial. Estos cambios incluyen edema e infiltración celular leve. La cantidad de secreción nasal aumenta y también su concentración de proteína.

Los rinovirus rara vez causan enfermedad del aparato respiratorio inferior. Experimentos en condiciones controladas han demostrado que el enfriamiento, incluso el uso de ropas mojadas, no produce catarro ni aumenta la susceptibilidad al virus. La sensación de frío es un síntoma inicial del catarro común.

Datos clínicos

El periodo de incubación es breve, de 2 a 4 días, y la enfermedad aguda por lo general dura siete días aunque la tos no productiva puede persistir de 2 a 3 semanas. El adulto promedio padece 1 a 2 ataques cada año. En adultos los síntomas generales incluyen estornudos, obstrucción nasal, secreción nasal y dolor faríngeo; otros síntomas pueden incluir cefalea, tos leve, malestar y sensación de frío. La fiebre es leve o está ausente. Las mucosas nasal y nasofaríngea están enrojecidas e inflamadas, y el sentido del olfato es menos agudo. No hay datos clínicos distintivos que permitan un diagnóstico etiológico del catarro causado por rinovirus en comparación con el catarro por otros virus. Una infección bacteriana secundaria puede producir otitis media aguda, sinusitis, bronquitis o neumonitis, sobre todo en niños.

Inmunidad

La mayoría de las personas desarrolla en el suero anticuerpos neutralizantes al virus infectante. Según la prueba empleada, la estimación de la frecuencia de respuesta varía de 37 hasta más de 90%. Los anticuerpos séricos persisten por años, pero su título disminuye. Al parecer existe una mayor declinación en la concentración de los anticuerpos en la secreción nasal.

Los anticuerpos se desarrollan de 7 a 21 días después de la infección; el momento de la aparición del anticuerpo neutralizante en las secreciones nasales es paralelo con la presencia de los anticuerpos en el suero. Debido a que la recuperación de una enfermedad por lo común precede a la aparición de anticuerpos, al parecer ésta no depende del anticuerpo, aunque los anticuerpos quizá logren la eliminación final de la infección. El interferón puede desempeñar alguna función en la recuperación.

Epidemiología

La enfermedad se presenta en todo el mundo. En las zonas templadas la tasa de ataque es mayor al principio del otoño y al final de la primavera. Las tasas de prevalencia son menores en verano. Miembros de comunidades aisladas constituyen grupos muy susceptibles.

Se estima que el virus se transmite por contacto estrecho, por medio de las secreciones contaminadas del aparato respiratorio. Los dedos de una persona con catarro generalmente están contaminados y la transmisión a las personas susceptibles tiene lugar entonces por contaminación de mano a mano, de mano a ojo o de mano a un objeto (p. ej., manija de la puerta) y a otra mano. Los rinovirus pueden sobrevivir por horas en las superficies contaminadas del ambiente. La autoinoculación después de contaminarse la mano puede ser una manera más importante de propagación que por partículas en el aire.

Las tasas de infección son mayores en lactantes y niños y disminuyen conforme aumenta la edad. La familia es un sitio importante de propagación de rinovirus. La introducción del virus en general se atribuye a los niños en edad escolar o preescolar. La tasa de ataque secundario en la familia varía de 30 a 70%.

En una sola comunidad múltiples serotipos de rinovirus son causantes de brotes de enfermedad en una temporada y diferentes serotipos predominan durante diferentes temporadas de enfermedad respiratoria. Aunque comúnmente existe un número limitado de serotipos causantes de enfermedad en un momento determinado, el número de serotipos capaces de producir enfermedad puede ser vasto.

Tratamiento y control

No se dispone de método o tratamiento específico. Es improbable que se desarrolle una vacuna potente para rinovirus debido a la dificultad para hacer crecer los rinovirus a títulos grandes en el cultivo, a la inmunidad fugaz y a los múltiples serotipos causantes de catarro. Además, muchos rinovirus se presentan en un solo brote de enfermedad respiratoria y sólo raras veces recidivan en la misma región. La inyección de vacuna purificada demuestra que las grandes concentraciones de anticuerpo sérico con frecuencia no se asocian con un aumento similar de los anticuerpos secretorios locales, los cuales pueden ser el factor más significativo en la prevención de la enfermedad.

Se estima que los antivirales tienen mayor probabilidad de ser un medio para el control de los rinovirus debido a los problemas para desarrollar una vacuna. Muchos compuestos eficaces *in vitro* no muestran eficacia en la clínica. El informe de la estructura tridimensional de la partícula viral imprimió nuevos ímpetus a la búsqueda de antivirales contra los rinovirus. Están bajo diseño fármacos que se adhieren al piso de la hendidura viral, de modo que no pueda tener lugar el enlace al receptor (figura 36-1). Otra técnica es bloquear los sitios del receptor celular mediante anticuerpos monoclonales u otros agentes.

Se ha demostrado que un curso de cinco días con interferón α intranasal en dosis grandes es eficaz para evitar

la propagación del rinovirus a partir de un caso índice dentro de una familia. No es eficaz como tratamiento de las infecciones establecidas. En estudios de campo, el empleo de pañuelos desechables virucidas (con ácido cítrico, ácido málico y laurilsulfato de sodio) reduce notablemente la transmisión del catarro por rinovirus.

ENFERMEDAD DE PEZUÑA Y BOCA (Aftovirus del ganado)

Esta enfermedad altamente infecciosa de animales de pezuña partida, como ganado vacuno, ovejas, cerdos y cabras es rara en EUA, pero es endémica en México y Canadá. Puede transmitirse a humanos por contacto o ingestión. En los humanos la enfermedad se caracteriza por fiebre, salivación y vesiculación de las membranas mucosas de la bucofaringe y de la piel de las palmas, plantas, dedos de manos y pies.

El virus es un picornavirus típico, es ácido lábil, con densidad de flotación en cloruro de cesio de 1.43 g/mL. Existen al menos siete tipos con más de 50 subtipos.

En los animales la enfermedad es muy contagiosa durante las primeras etapas de la infección, cuando hay viremia y las vesículas en la boca y sobre las pezuñas se rompen y liberan grandes cantidades de virus. El material excretado permanece infectante durante periodos prolongados. La tasa de mortalidad en animales es en general baja, pero puede alcanzar 70%. Los animales infectados producen escasa leche y carne. Muchos ejemplares de ganado actúan como foco de infección hasta por ocho meses. Después de la infección, la inmunidad es de corta duración.

Varios animales son susceptibles a la infección. Se puede reproducir la enfermedad típica al inocular el virus en los cojinetes de las patas. Se han preparado vacunas tratadas con formalina a partir de virus crecidos en cultivos de tejidos. Sin embargo, no producen inmunidad perdurable. Actualmente están bajo desarrollo nuevas vacunas mediante técnicas de DNA recombinante.

Los métodos para controlar la enfermedad los dictan su gran contagiosidad y la resistencia del virus a la inactivación. Cuando aparece un foco de infección en EUA, todos los animales expuestos se sacrifican y sus despojos se destruyen. Se establece una cuarentena estricta y no se asume que el área es segura hasta que los animales susceptibles no desarrollen síntomas en un plazo de 30 días. Otro método es poner en cuarentena el rebaño y vacunar a todos los animales no afectados. En otros países se han empleado con éxito esquemas de vacunación sistemática. Algunas naciones (p. ej., EUA y Australia) prohíben la importación de materiales potencialmente infectantes como carne fresca y la enfermedad se ha eliminado en estas regiones. Aun así, las aves migratorias pueden desempeñar alguna función en el transporte del virus de un país a otro.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca de los rinovirus es correcto?
 - Hay tres tipos antigénicos
 - La amantadina protege contra la infección
 - No sobreviven en superficies ambientales
 - Son los agentes causantes más frecuentes del resfriado común
 - Comparten similitudes fisicoquímicas con los coronavirus
- Un varón de 26 años de edad presenta miopericarditis con insuficiencia cardíaca congestiva leve que se incrementa en el transcurso de varias semanas. Se diagnostica infección por coxsackievirus B5. ¿Cuál de los siguientes síndromes clínicos se relaciona también con las infecciones por coxsackievirus?
 - Herpangina
 - Miocarditis/pericarditis
 - Meningitis aséptica
 - Conjuntivitis hemorrágica aguda
 - Todas las anteriores
- Un niño de tres meses de edad presenta fiebre, intranquilidad y llanto inusual. Estos síntomas van seguidos de letargo. En el examen físico se observa a un infante al parecer normal cuyas respuestas a estímulos son mínimas. Una punción lumbar obtiene líquido cefalorraquídeo con 200 leucocitos por mililitro. Se diagnostica meningitis aséptica aguda, causada probablemente por un enterovirus. Los enterovirus se caracterizan por:
 - Latencia en los ganglios sensoriales y reactivación primaria en pacientes inmunocomprometidos
 - Transmisión principalmente por la vía fecal-oral
 - La presencia de una polimerasa de RNA
 - La entrada de células que siguen al enlace con el receptor ICAM1
 - Experimentar desplazamiento y deriva antigénicos
- Las vacunas de picornavirus se han usado durante varias décadas en la prevención de enfermedad en humanos. ¿Cuál de los enunciados siguientes es correcto?
 - La vacuna del poliovirus atenuado vivo produce resistencia del tubo digestivo
 - Hay una vacuna muerta efectiva contra los tres tipos principales de rinovirus
 - La vacuna de poliovirus atenuado vivo induce inmunidad contra los virus coxsackie D estrechamente relacionados
 - Ninguna de las vacunas de enterovirus disponibles se deben suministrar a pacientes inmunocomprometidos
 - Sólo la vacuna del poliovirus atenuado vivo se recomienda en la actualidad para uso en EUA
- Un mes después de haber salido de la escuela para el verano, una adolescente de 16 años de edad manifiesta fiebre, mialgia y cefalea. Se sabe que en la comunidad se está presentando un brote de una enfermedad con síntomas similares causado por un echovirus. El sitio anatómico primario de multiplicación del echovirus en el huésped humano es:
 - El sistema muscular
 - El sistema nervioso central
 - El tubo digestivo
 - En sangre y sistema linfático
 - El sistema respiratorio
- ¿Cuál de las propiedades siguientes de enterovirus no la comparten los rinovirus?
 - Hay tres tipos antigénicos
 - La amantadina protege contra la infección
 - No sobreviven en superficies ambientales
 - Son los agentes causantes más frecuentes del resfriado común
 - Comparten similitudes fisicoquímicas con los coronavirus

- A. Genoma de RNA monocatenario
- B. Producción mediante segmentación de proteínas virales a partir de un precursor de poliproteína
- C. Resistencia a disolventes lipídicos
- D. Estabilidad a pH ácido (pH 3.0)
- E. Simetría icosaédrica

Respuestas: 1 = D; 2 = E; 3 = B; 4 = A; 5 = C; 6 = D

REFERENCIAS

- Couch RB: Rhinoviruses. In: *Fields Virology*. 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins. 2001.
- Pallansch MA, Roos RP: Enteroviruses: Polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses, and newer enteroviruses. In: *Fields Virology*. 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins. 2001.
- Racaniello VR, Ren R: Poliovirus biology and pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 1996;206:305.
- Rotbart HA: Antiviral therapy for enteroviruses and rhinoviruses. *Antiviral Chem Chemother* 2000;11:261.
- Technical Consultative Group to the World Health Organization on the Global Eradication of Poliomyelitis: "Endgame" issues for the global polio eradication initiative. *Clin Infect Dis* 2002;34:72.

Reovirus, rotavirus y calicivirus

Los reovirus son virus de tamaño mediano con un genoma de RNA segmentado de doble cadena. La familia incluye el rotavirus humano, la causa más importante de gastroenteritis infantil en el mundo (figura 37-1). La gastroenteritis aguda es una enfermedad muy común, con impacto significativo sobre la salud pública. Se estima que en los países en desarrollo cada año es causa de la muerte de 3.5 millones de niños en edad preescolar. En EUA la gastroenteritis aguda ocupa el segundo lugar como causa de enfermedad en la comunidad, sólo precedida por las infecciones respiratorias agudas.

Los calicivirus son virus pequeños con un genoma de RNA de una sola cadena. La familia contiene el virus Norwalk, el causante principal de gastroenteritis epidémica bacteriana en el ámbito mundial.

PROPIEDADES DE LOS REOVIRUS

En el cuadro 37-1 se presenta un resumen de las propiedades importantes de los reovirus.

Estructura y composición

Los viriones miden, del 60 a 80 nm de diámetro y poseen dos cápsides concéntricas, cada una icosaédrica. (Los rotavirus tienen una estructura de triple capa.) Los rotavirus poseen 132 capsómeros; no hay envoltura exterior. Las partículas de virus con una sola capa que carecen de cápsula externa muestran diámetro de 50 a 60 nm. El núcleo central de las partículas es de 33 a 40 nm de diámetro (figura 37-2). La partícula de doble capa es la forma infectante completa del virus.

El genoma consta de una doble cadena de RNA de 10 a 12 segmentos discontinuos, el genoma total tiene un tamaño de 16 a 27 kpb, según el género. Los rotavirus contienen 11 segmentos de genoma, en tanto que los ortoreovirus y los orbivirus poseen 10 segmentos cada uno, y los coltivirus tienen 12 segmentos. Los segmentos individuales del RNA varían de tamaño desde 680 pb (rotavirus) hasta 3 900 pb (ortoreovirus). El centro del virión contiene varias enzimas necesarias para la transcripción y el coronamiento del RNA viral.

Los reovirus son extraordinariamente estables al calor, al pH en un rango entre 3.0 a 9.0 y a solventes lipídicos, pero se inactivan con etanol al 95%, fenol y cloro. El trata-

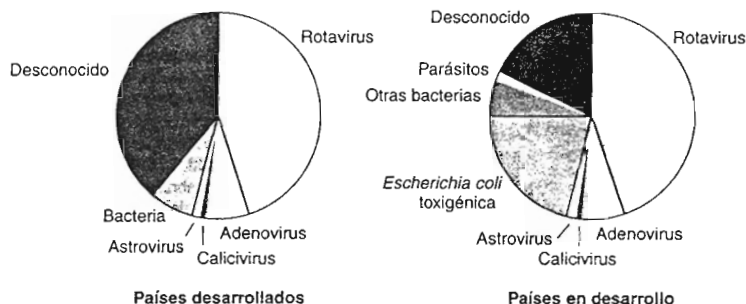


Figura 37-1. Estimación de la participación de los agentes etiológicos en la enfermedad diarreica grave que requiere hospitalización en los lactantes y niños pequeños en los países desarrollados (izquierda) y en los países en desarrollo (derecha). (Reproducido con autorización de Kapikian AZ: Viral gastroenteritis. JAMA 1993;269:627.)

Cuadro 37-1. Propiedades importantes de los reovirus

Virión: icosaédrico, 60 a 80 nm de diámetro, doble cápside
Composición: RNA (15%), proteína (85%)
Genoma: RNA de doble cadena, lineal y segmentado (10 a 12 segmentos); tamaño total del genoma 16 a 27 kpb
Proteínas: nueve proteínas estructurales; el centro contiene varias enzimas
Envoltura: ninguna. (Durante la morfogénesis de la partícula de rotavirus se presenta una pseudovoltura transitoria.)
Replicación: citoplasma; los viriones no pierden por completo su cubierta
Características notables:
La redistribución genética se presenta con facilidad
Los rotavirus son la principal causa de diarrea infantil
Los reovirus son buenos modelos para los estudios moleculares de la patogenia viral

miento limitado con enzimas proteolíticas aumenta su infectividad.

Clasificación

La familia *Reoviridae* se divide en nueve géneros, cuatro con capacidad para infectar humanos y animales: *Orthoreovirus*,

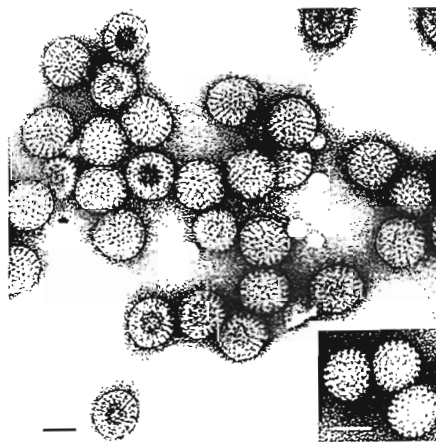


Figura 37-2. Micrografía electrónica de una preparación teñida en negativo de un rotavirus humano. (D, partículas con doble cubierta; S, partículas con una cubierta; E, cápsides vacías; i, fragmento de la capa interna; io, fragmento de una combinación de capa interna y externa.) **Recuadro:** partículas de una sola cubierta obtenidas por tratamiento de la preparación viral con dodecilsulfato de sodio. Barras de 50 nm. (Cortesía de J. Esparza y F. Gil.)

Rotavirus, *Coltivirus* y *Orbivirus*. Otros cuatro géneros sólo infectan plantas e insectos y un quinto género infecta peces.

Existen al menos tres subgrupos principales y nueve serotipos de rotavirus humanos. Las cepas de origen humano y animal pueden estar en el mismo serotipo. Otros cinco serotipos sólo se encuentran en animales. Únicamente se reconocen tres serotipos diferentes de reovirus. Hay cerca de 100 serotipos diferentes de orbivirus y dos serotipos de coltivirus.

Replicación de los reovirus

Las partículas virales se adhieren a receptores específicos sobre la superficie de la célula (figura 37-3). La proteína de adhesión del reovirus que lo une a la célula es la hemaglutinina viral (proteína σ 1), un componente menor de la cápside externa.

Luego de la adhesión y la penetración, el virus pierde su cubierta en los lisosomas del citoplasma celular. Sólo se retira la capa externa del virus y se activa una RNA transcriptasa relacionada con el centro del virus. Esta transcriptasa transcribe las moléculas del mRNA de la cadena de sentido negativo de cada segmento del RNA del genoma de doble cadena en el centro viral intacto. Las moléculas del mRNA funcionales corresponden en tamaño a los segmentos del genoma. Los centros del reovirus contienen todas las enzimas necesarias para transcribir, coronar y expulsar los mRNA del centro viral y dejar los segmentos del genoma de RNA de doble cadena en el interior.

Una vez expulsados del centro, los mRNA se traducen en productos génicos primarios. Algunos de los transcritos de longitud completa se encapsulan para formar partículas virales inmaduras. Una replicasa viral se encarga de sintetizar cadenas de sentido negativo para formar los segmentos del genoma de doble cadena. Esta replicación para formar la progenie del RNA de doble cadena tiene lugar en las estructuras centrales parcialmente completas. Se desconocen los mecanismos que aseguran el ensamble del complemento correcto de los segmentos del genoma en un centro viral en desarrollo. Los polipéptidos virales probablemente se autoensamblan para formar las capas interna y externa de la cápside.

Los reovirus producen cuerpos de inclusión en el citoplasma en donde se encuentran las partículas virales. Estas fábricas virales están estrechamente relacionadas con estructuras tubulares (microtúbulos y filamentos intermedios). La morfogénesis de los rotavirus implica la gemación de las partículas con una sola capa en el retículo endoplásmico rugoso. Las "pseudovolturas" adquiridas de esta manera se retiran a continuación y se añaden las cápsides externas (figura 37-3). Esta vía poco acostumbrada se emplea debido a que la proteína principal externa de la cápside está glucosilada.

Cuando las células sufren lisis se libera la progenie de viriones.

ROTAVIRUS

Los rotavirus son una de las principales causas de enfermedad diarreica en lactantes humanos y animales de corta edad, incluso terneros y cerdos. También son comunes las infecciones en humanos y animales adultos. Entre los rotavirus se en-

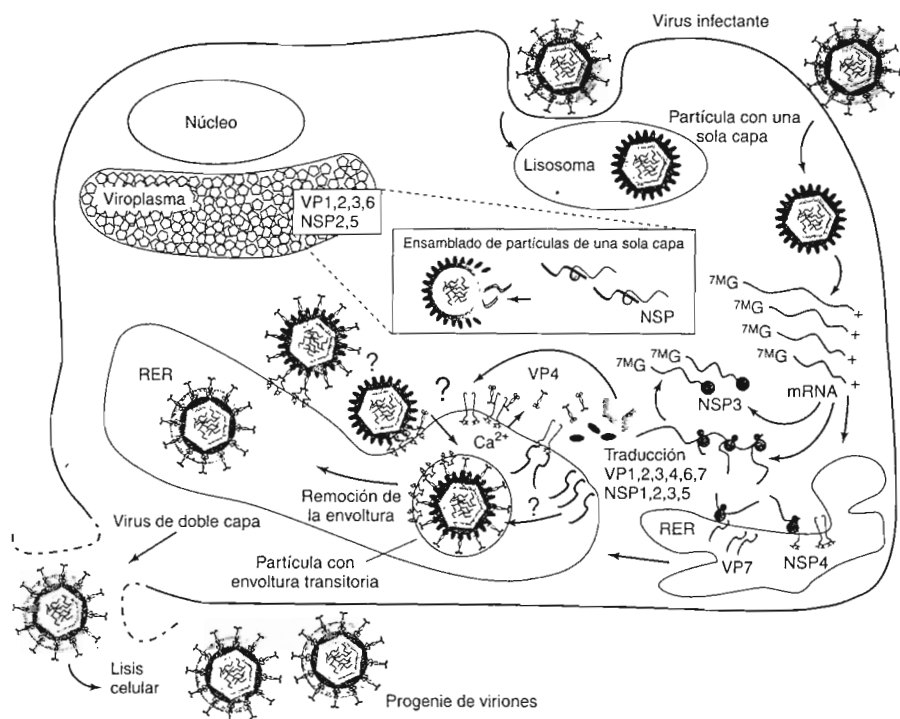


Figura 37-3. Esquema del ciclo de replicación del rotavirus. (Reproducido con autorización de Estes MK: Rotaviruses and their replication. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors] Lippincott-Raven, 1996.)

cuentran los agentes de la diarrea infantil humana, de la diarrea bovina de Nebraska, de la diarrea epizootica de los ratones lactantes y el virus SA11 de los monos.

Los rotavirus se asemejan a los reovirus en términos de morfología y estrategia de replicación.

Clasificación y propiedades antigénicas

Los rotavirus han sido clasificados en cinco grupos (A-E) con base en los epítopos antigénicos en la proteína estructural interna VP6. Estos antígenos pueden detectarse mediante inmunofluorescencia, ELISA e inmunomicroscopía electrónica (IEM). Los rotavirus del grupo A son los patógenos humanos más frecuentes. Las proteínas VP4 y VP7 de la cápsida exterior poseen epítopos importantes en la actividad neutralizante, aunque la glucoproteína VP7 parece ser el antígeno predominante. Estos antígenos específicos de tipo se diferencian entre los rotavirus y pueden demostrarse mediante pruebas de NI. Se han identificado diversos serotipos de los rotavirus humanos y animales. Algunos rotavirus animales y

humanos comparten especificidad serotípica. Por ejemplo, el virus SA11 del mono es antígenicamente muy similar al serotipo humano 3. En la figura 37-4 se muestran las correspondencias genéticas codificantes encargadas de la especificidad estructural y antigénica de las proteínas del rotavirus.

Los virus comúnmente relacionados con la gastroenteritis humana se clasifican como rotavirus del grupo A, pero otros rotavirus antígenicamente distintos también pueden producir brotes de diarrea, sobre todo en adultos.

En estudios epidemiológicos moleculares los virus aislados se analizaron con base en las diferencias de migración de los 11 segmentos del genoma después de la electroforesis del RNA en gel de poliácridamida (figura 37-5). Estas diferencias de electroferotipos se pueden usar para diferenciar los virus del grupo A de otros grupos, pero no se pueden usar para predecir serotipos.

Susceptibilidad animal

Los rotavirus poseen una extensa variedad de huéspedes. La mayor parte de los virus aislados se han recuperado de

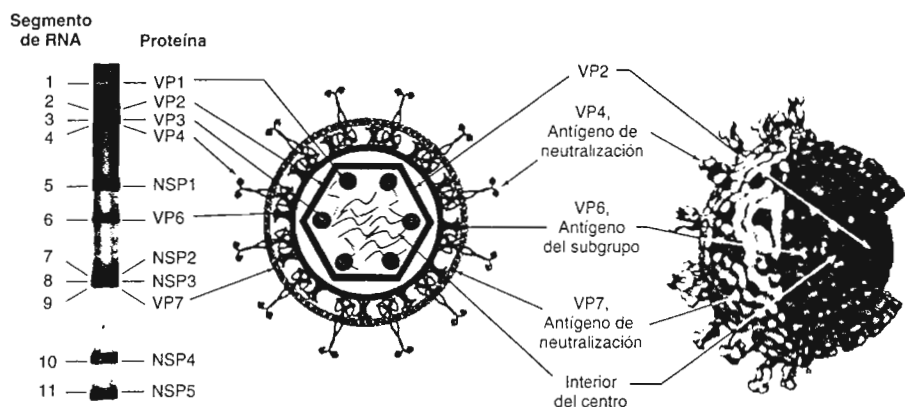


Figura 37-4. Correspondencia de codificación de genes para la especificidad antigénica de las proteínas del rotavirus. A la izquierda se muestran los segmentos del genoma RNA y los productos proteínicos codificados. En el centro se observa una representación esquemática de la partícula de rotavirus completa con localización de las proteínas estructurales en las diferentes capas indicadas. La figura a la derecha muestra la estructura tridimensional de una partícula viral. En la mitad izquierda se dibuja una partícula completa; la estructura en la mitad derecha tiene una parte de las capas externa e interna desplazadas para mostrar las capas media e interna. (Reproducido de Estes MK: Rotaviruses and their replication. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors] Lippincott-Raven, 1996. Modificado de Conner ME, Matson DO, Estes MK: Rotavirus vaccines and vaccination potential. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994;185:285, with an unpublished structure of BVV Prasad and A Shaw.)

animales recién nacidos con diarrea. Pueden presentarse infecciones de una especie a otra en inoculaciones experimentales, pero no está claro si esto acontece en la naturaleza. El rotavirus porcino infecta a los cerdos recién nacidos y a los recién destetados. Los cerdos recién nacidos con frecuencia manifiestan infección subclínica, debido tal vez a la presencia de anticuerpos maternos, en tanto que la enfermedad declarada es más común en los animales recién destetados.

Propagación en cultivo de células

Los rotavirus son agentes difíciles para cultivar. La mayor parte de los rotavirus humanos del grupo A pueden cultivarse si se tratan previamente con la enzima proteolítica tripsina y si ésta se incluye en concentraciones pequeñas en el medio de cultivo de tejido. Esta enzima escinde una proteína de la cápside externa y facilita la pérdida de la cubierta. Se han cultivado muy pocas cepas de rotavirus de los grupos que no son A.

Patogenia

Los rotavirus infectan a las células en las vellosidades del intestino delgado (respetan las mucosas gástrica y del colon). Se multiplican en el citoplasma de los enterocitos y dañan sus mecanismos de transporte. Una de las proteínas codificadas por el rotavirus, la NSP4, es una enterotoxina

viral que induce la secreción de líquidos y electrolitos a la luz intestinal al desencadenar una vía para la transducción de las señales. Las células dañadas pueden desprenderse en la luz del intestino y liberar grandes cantidades de virus, los cuales aparecen en las heces (hasta 10^{10} partículas por gramo de heces). La excreción viral dura, por lo general, 2 a 12 días en pacientes por lo demás sanos, pero puede prolongarse en aquellos con nutrición deficiente. La diarrea producida por los rotavirus a veces se debe a las absorciones defectuosas de sodio y de la glucosa conforme las células dañadas en las vellosidades se sustituyen por células inmaduras y no absorbentes de las criptas. Puede requerir de 3 a 8 semanas para restablecerse la función normal.

Datos clínicos y diagnóstico de laboratorio

Los rotavirus son causantes de la mayor parte de las enfermedades diarreicas en lactantes y niños en todo el mundo, pero no en adultos (cuadro 37-2). Hay un periodo de incubación de 1 a 3 días. Los síntomas característicos incluyen diarrea acuosa, fiebre, dolor abdominal y vómitos, que conducen a la deshidratación.

En los lactantes y los niños la pérdida grave de electrolitos y líquidos puede ser mortal, a menos que se instituya tratamiento. Los pacientes con casos más leves presentan síntomas durante 3 a 8 días y después se recuperan por completo. Sin embargo, la excreción viral en las heces podría persistir hasta



Figura 37-5. Perfiles electroforéticos de los segmentos del RNA del rotavirus. Los RNA virales fueron sometidos a electroforesis en gel de poliacrilamida al 10% y se tiñeron con plata. Se ilustran diferentes grupos de rotavirus y de patrones del RNA: un virus del mono del grupo A (SA11; carril A), un rotavirus humano del grupo A (carril B), un virus de la diarrea del adulto humano del grupo B (carril C), y un virus de conejo del grupo A que muestra un patrón "corto" del RNA (carril D). Los rotavirus contienen 11 segmentos de RNA en el genoma, pero en ocasiones 2 o 3 segmentos se desplazan juntos y son difíciles de separar. (Fotografía proporcionada por T. Tanaka y MK. Estes)

50 días después del inicio de la diarrea. Se presentan infecciones asintomáticas con seroconversión. En niños con inmunodeficiencias, los rotavirus causan enfermedad grave y prolongada.

Los contactos adultos pueden infectarse, según puede juzgarse por la seroconversión, pero raras veces manifiestan síntomas y el virus se detecta con poca frecuencia en sus heces. Una fuente común de infección es el contacto con casos pediátricos. Sin embargo, se han presentado epidemias de enfermedad grave en los adultos, sobre todo en poblaciones cerradas como salas geriátricas. En China, los rotavirus del grupo B se han implicado en brotes extensos de gastroenteritis grave en los adultos (cuadro 37-2).

El diagnóstico de laboratorio se basa en la demostración del virus en las heces recolectadas al principio de la enfermedad y en el aumento de los títulos de anticuerpos. Los

virus se demuestran en las heces por microscopía electrónica, pruebas de aglutinación de látex o ELISA. La genotipificación del ácido nucleico del rotavirus a partir de muestras de heces mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es el método de detección más sensible. Pueden emplearse pruebas serológicas para detectar un aumento del título de los anticuerpos, en particular de ELISA.

Epidemiología e inmunidad

Los rotavirus son la causa más importante de gastroenteritis en los niños pequeños en todo el mundo. Las estimaciones varían de 3 a 5 mil millones de episodios anuales de diarrea en los niños menores de cinco años de edad en África, Asia y Latinoamérica, los cuales dan lugar hasta a 5 millones de muertes. Los países desarrollados presentan una gran tasa de morbilidad, pero una tasa baja de mortalidad. Es característico que más de 50% de los casos de gastroenteritis aguda de los niños hospitalizados en el mundo se deba a rotavirus.

Las infecciones por rotavirus en general predominan durante la época invernal. Las infecciones sintomáticas son las más comunes en niños entre las edades de seis meses y dos años, y la transmisión parece ser por la ruta fecal-oral. Son frecuentes las infecciones hospitalarias.

Los rotavirus son ubicuos; a la edad de tres años 90% de los niños presentan anticuerpos a uno o más tipos en el suero. La gran prevalencia de los anticuerpos a los rotavirus se conserva en los adultos, lo cual sugiere reinfecciones subclínicas por el virus. Las infecciones por rotavirus son comunes; se ha demostrado que los niños pequeños pueden sufrir hasta cinco reinfecciones a los dos años de edad. Las infecciones asintomáticas son más comunes con reinfecciones sucesivas. Los factores inmunitarios locales, como la IgA secretoria o el interferón, pueden ser importantes en la protección contra la infección por rotavirus. En los lactantes menores de seis meses son comunes las infecciones asintomáticas, tiempo durante el cual están presentes anticuerpos maternos protectores adquiridos de manera pasiva. Estas infecciones neonatales no evitan la reinfección, pero pueden proteger contra el desarrollo de enfermedad grave durante las reinfecciones.

Tratamiento y control

El tratamiento de la gastroenteritis es de apoyo para corregir las pérdidas de agua y de electrolitos capaces de conducir a la deshidratación, acidosis, choque y muerte. El tratamiento consiste en la restitución de los líquidos y el restablecimiento del equilibrio electrolítico por vía intravenosa u oral, lo que sea más factible. La mortalidad por diarrea infantil es poco frecuente en los países desarrollados, debido al empleo rutinario de una terapéutica de restitución eficaz.

En vista de la transmisión por la ruta fecal-oral, el tratamiento y el saneamiento adecuados de las aguas residuales son medidas significativas de control.

En 1998, en EUA se otorgó la licencia a una vacuna oral de rotavirus vivos atenuados *rhesus* para la inmunización infantil. La vacuna se retiró del mercado un año des-

Cuadro 37-2. Virus relacionados con gastroenteritis aguda en los humanos¹

Virus	Tamaño (nm)	Epidemiología	Importante como causa de hospitalización
Rotavirus			
Grupo A	60 a 80	La causa única más importante (viral o bacteriana) de enfermedad diarreica endémica grave en lactantes y niños pequeños en el mundo (durante los meses más fríos en climas templados)	Sí
Grupo B	60 a 80	Brotos de enfermedad diarreica en los adultos y niños en China	No
Grupo C	60 a 80	Casos esporádicos y brotes ocasionales de enfermedad diarreica en niños	No
Adenovirus entérico	70 a 90	Segundo agente viral más importante de enfermedad diarreica endémica en lactantes y niños pequeños en todo el mundo	Sí
Calicivirus y virus Norwalk	27 a 40	Causa importante de brotes de vómitos y enfermedad diarreica en los niños mayores y en los adultos en familias, comunidades e instituciones; relacionado frecuentemente con la ingestión de alimentos	No
Sapporo	27 a 40	Casos esporádicos y brotes ocasionales de enfermedad diarreica en lactantes, niños pequeños y ancianos	No
Astrovirus	28 a 30	Casos esporádicos y brotes ocasionales de enfermedad diarreica en lactantes, niños pequeños y ancianos	No

¹ Reproducido con autorización de Kapikian AZ: Viral gastroenteritis. JAMA 1993;269:627.

pués debido a reportes de intususcepción (bloques intestinales) como un efecto colateral, infrecuente pero grave, relacionado con la vacuna. Aún se tiene la esperanza de contar con una vacuna segura y efectiva para reducir los brotes mundiales de infección por rotavirus.

REOVIRUS

Se desconoce si los virus de este género, el más ampliamente estudiado por los biólogos moleculares, son causantes de enfermedad en los humanos.

Clasificación y propiedades antigénicas

Los reovirus son ubicuos y con una vasta diversidad de huéspedes. Se han recuperado de muchas especies tres tipos de reovirus, distintos pero interrelacionados, y pueden demostrarse mediante pruebas de Nt y de IH. Los reovirus contienen una hemaglutinina para los eritrocitos humanos O, o de bovinos.

Epidemiología

Los reovirus producen muchas infecciones asintomáticas, puesto que la mayoría de las personas presenta anticuerpos en el suero en la edad adulta temprana. Los anticuerpos también están presentes en otras especies.

Los tres tipos se han recuperado de niños sanos, de niños pequeños durante los brotes de enfermedad febril menor, de niños con diarrea o enteritis y de chimpancés con rinitis epidémica.

Los estudios en voluntarios humanos fracasaron para demostrar una clara interrelación causa-efecto entre los reovirus y la enfermedad humana. En los voluntarios inoculados, los reovirus se recuperan con bastante mayor rapidez de las heces que de la nariz o la faringe. Se ha sugerido una relación del reovirus tipo 3 con la atresia biliar en lactantes.

Patogenia

Los reovirus se han convertido en un modelo importante para el estudio de la patogenia de la infección viral a nivel molecular. Los recombinantes definidos provenientes de dos reovirus con diferentes fenotipos patógenos se usan para infectar ratones. A continuación se emplea el análisis de segregación para interrelacionar características particulares de la patogenia con genes virales y productos génicos específicos. Las propiedades patógenas de los reovirus se determinan principalmente por las especies de proteína de la cápside externa del virión.

ORBIVIRUS

Los orbivirus son un género de la familia *Reoviridae*. Comúnmente infectan insectos y muchos se transmiten por insectos a los vertebrados. Se conocen alrededor de 100 serotipos. Ninguno de estos virus es causa de enfermedad clínica grave en los humanos, pero pueden producir fiebre leve. Los patógenos que producen enfermedades graves en animales incluyen el virus de la lengua azul de las ovejas y el virus de la enfermedad del caballo africano. En muchos

vertebrados, incluso humanos, se encuentran anticuerpos contra los orbivirus.

El genoma consta de 10 segmentos de RNA de doble cadena, con una dimensión total del genoma de 18 kpb. El ciclo de replicación es similar al del reovirus. Los orbivirus son sensibles a la disminución del pH, al contrario de la estabilidad general de otros reovirus.

CALICIVIRUS

Además de los rotavirus y los adenovirus no cultivables, los miembros de la familia *Caliciviridae* son agentes importantes de la gastroenteritis viral en humanos. El miembro más importante es el virus Norwalk. En el cuadro 37-3 se resumen las propiedades de los calicivirus.

Clasificación y propiedades antigénicas

Los calicivirus son similares a los picornavirus, pero son un poco más grandes (27 a 40 nm) y contienen una sola proteína estructural principal. Presentan una morfología distintiva en el microscopio electrónico (figura 37-6). La familia *Caliciviridae* se divide en cuatro géneros. *Norovirus*, que incluye a los virus Norwalk; *Sapovirus*, que incluye a los virus parecidos a Sapporo; *Lagovirus*, el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo, y *Vesivirus*, que incluye al virus del exantema vesicular del cerdo, calicivirus de felinos y virus marinos encontrados en pinnípedos, ballenas y peces. Los dos primeros géneros contienen virus humanos que no pueden ser cultivados; los dos últimos géneros contienen sólo cepas animales que se pueden cultivar *in vitro*. El virus de la enfermedad hemorrágica del conejo fue introducido a Australia en 1995 como un agente de control biológico para reducir la población de conejos silvestres del país.

A los virus Norwalk se les denominó "virus estructurados redondos y pequeños" con base en su detección mediante microscopio electrónico.

No están definidos los serotipos del calicivirus humano. Los virus Norwalk se subdividen en dos genogrupos.

Cuadro 37-3. Propiedades importantes de calicivirus

Virión: cosaeédrico, 27 a 40 nm de diámetro; depresiones en forma de taza en las superficies de la cápside
Genoma: RNA monocatenario, lineal, sentido positivo, no segmentado; tamaño 7.4 a 8.3 kb; contiene proteínas ligadas al genoma (VPg)
Proteínas: polipéptidos segmentados de una poliproteína precursora; la cápside está compuesta de una sola proteína
Cubierta: ninguna
Duplicación: citoplasma
Características sobresalientes: los virus Norwalk son la causa principal de gastroenteritis epidémica no bacteriana
Los virus humanos no son cultivables

Datos clínicos y diagnóstico de laboratorio

El virus Norwalk es la causa más importante de gastroenteritis viral epidémica en adultos (cuadro 37-2). La gastroenteritis epidémica no bacteriana se caracteriza por: 1) ausencia de patógenos bacterianos; 2) gastroenteritis con inicio y recuperación rápidos y signos sistémicos relativamente leves, y 3) un patrón epidemiológico de una enfermedad altamente transmisible que se disemina con rapidez sin ninguna predilección particular en términos de la edad o región geográfica. En los informes de diferentes brotes se han utilizado varios términos descriptivos (p. ej., gastroenteritis viral epidémica, diarrea viral, enfermedad del vómito de invierno), dependiendo de la característica clínica predominante.

La gastroenteritis viral Norwalk tiene un periodo de incubación de 24 a 48 h. El inicio es rápido, y el curso clínico es breve, con duración de 12 a 60 h; los síntomas son diarrea, náuseas, vómito, fiebre con poca temperatura, calambres abdominales, cefalea y malestar general. La enfermedad puede ser incapacitante durante la fase sintomática, pero rara vez se requiere hospitalización. Las infecciones por el virus Norwalk tienen más probabilidades de inducir vómito que las que causan los virus parecidos al Sapporo. La deshidratación es la complicación más común en los jóvenes y ancianos. No se tienen informes de ninguna secuela.

En experimentos con voluntarios se ha demostrado con claridad que la aparición del virus Norwalk coincide con la enfermedad clínica. El anticuerpo se desarrolla durante la enfermedad y, por lo general, protege a corto plazo contra nuevas infecciones con el mismo agente. La inmunidad a largo plazo no corresponde bien con la presencia de anticuerpos séricos. Algunos voluntarios pueden volver a infectarse con el mismo virus después de dos años, aproximadamente.

La PCR para transcriptasa reversa es la técnica más usada para la detección de calicivirus humanos en muestras clínicas (heces, vómito) y muestras ambientales (alimentos contaminados, agua). Como resultado de la diversidad genética entre cepas circulantes, es muy importante la elección de pares cebadores de la PCR.

El microscopio electrónico suele utilizarse para detectar partículas de virus en muestras de heces. Sin embargo, las partículas de virus Norwalk por lo común están presentes en baja concentración y se dificulta reconocerlas; es necesario identificarlas por medio del microscopio inmunoelectrónico. Los inmunoanálisis ELISA basados en las partículas parecidas a las del virus recombinante detectan respuestas de anticuerpos, con un aumento del cuádruplo o mayor en el título de anticuerpo IgG en sueros de las fases aguda y de convalecencia, que es indicativo de infección reciente. Sin embargo, no siempre están al alcance los reactivos necesarios, y los antígenos no detectan respuestas para los tipos antigénicos del virus Norwalk.

Epidemiología e inmunidad

Los calicivirus humanos tienen distribución en el ámbito mundial. Los virus Norwalk son la causa más común de gastroenteritis no bacteriana en EUA, y provocan un estimado de 23 millones de casos al año.

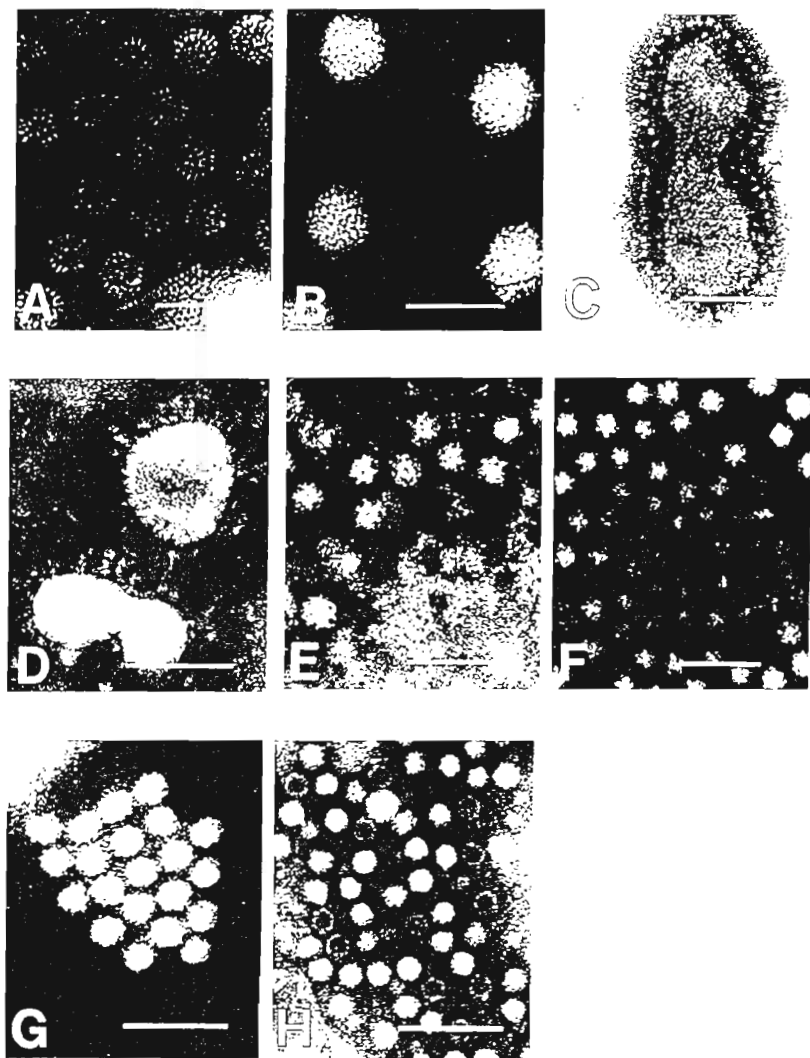


Figura 37-6. Micrografía electrónica de partículas virales observadas en las heces de pacientes con gastroenteritis. Estos virus se observaron después de tinción negativa. Los virus específicos y las ampliificaciones originales de las micrografías son las siguientes. A: Rotavirus (185 000 x). B: Adenovirus entérico (234 000 x). C: Coronavirus (249 000 x). D: Torovirus (coronavirus) (249 000 x). E: Calicivirus (250 000 x). F: Astrovirus (196 000 x). G: Virus Norwalk (calicivirus) (249 000 x). H: Parvovirus (249 000 x). Las micrografías electrónicas en los recuadros C-H fueron proporcionadas originalmente por T. Flewett; el recuadro E se obtuvo originalmente de CR Madeley. Barras de 100 nm. (Reproducida con autorización de Graham DY, Estes MK: Viral infections of the intestine. Pages 566-578 in: *Principles and Practice of Gastroenterology and Hepatology*. Gitnick G *et al.* [editors]. Elsevier Science Publishing Co., 1988.)

Es común relacionar a los virus con brotes epidémicos de gastroenteritis de transmisión hídrica, por alimentos y la relacionada con mariscos. Los brotes en la comunidad tienen lugar en cualquier estación. Todos los grupos de edad pueden ser afectados. Los brotes se presentan durante el año con un pico estacional durante los meses más fríos. En la mayor parte de los brotes están involucrados los alimentos o la transmisión de una persona a otra.

Las características del virus Norwalk son una dosis infecciosa baja (algo así como 10 partículas de virus), estabilidad relativa en el ambiente y múltiples modos de transmisión. Sobrevive a las 10 ppm de cloro y calentamiento a 60 °C; se puede mantener en ostras cocidas al vapor.

Probablemente la diseminación fecal-oral es el medio principal de transmisión del virus Norwalk. Durante un periodo de cinco años en EUA (1996 a 2000), los alimentos estuvieron relacionados en 39% de los brotes de gastroenteritis por el virus Norwalk, el contacto persona a persona, en 12%, el agua, en 3%, y un origen desconocido en 18%.

Los brotes de gastroenteritis Norwalk tienen lugar en múltiples entornos. En el mismo periodo de cinco años que antes, 39% se presentaron en restaurantes; 29%, en asilos de ancianos y hospitales; 12%, en escuelas y centros de cuidado infantil; 10%, en lugares para tomar vacaciones, incluidos los cruceros; y 9%, en otros entornos.

Ninguna prueba de neutralización *in vitro* está disponible para estudiar la inmunidad. En estudios de provocación con voluntarios se demostró que casi 50% de los adultos son susceptibles a la enfermedad. El anticuerpo del virus Norwalk se adquiere a una edad mayor que el del rotavirus, el cual se desarrolla al principio de la niñez. En países en desarrollo, la mayor parte de los niños ha desarrollado anticuerpos del virus Norwalk a los cuatro años de edad.

Tratamiento y control

El tratamiento es sintomático. La baja dosis infecciosa permite la transmisión eficaz del virus. Como resultado de la naturaleza infecciosa de las heces, se debe tener cuidado con su eliminación. El lavarse bien las manos disminuye la transmisión en la familia o en instituciones. Es importante el procesamiento cuidadoso de los alimentos, ya que muchos brotes tienen lugar si la comida está contaminada. La purificación del agua potable y el agua de las albercas debe disminuir los brotes por virus Norwalk. No hay vacuna.

Astrovirus

Los astrovirus tienen de 28 a 30 nm de diámetro y, al igual que los calicivirus, muestran morfología distintiva en el microscopio electrónico (figura 37-6F). Contienen RNA monocatenario de sentido positivo con un tamaño de 6.8 a 7.9 kb. Se reconocen al menos ocho serotipos mediante IEM y neutralización. Los astrovirus causan enfermedades diarreicas y pueden eliminarse en las heces en cantidades extraordinariamente grandes.

Los astrovirus se transmiten por la ruta fecal-oral por alimentos o agua contaminados, contacto persona a persona o superficies sucias. Se reconocen como patógenos para

infantes y niños, pacientes ancianos internados y personas inmunodeficientes (cuadro 37-2). Los astrovirus pueden permanecer ocultos durante periodos prolongados en huéspedes inmunocomprometidos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Un varón de 36 años de edad disfrutó una comida de ostras crudas; 20 h después se enfermó, con inicio repentino de vómito, diarrea y cefalea. La causa más probable de esta gastroenteritis es:
 - Astrovirus
 - Virus de la hepatitis A
 - Virus Norwalk
 - Rotavirus, grupo A
 - Echovirus
- Este virus es la causa más importante de gastroenteritis en infantes y niños pequeños. Causa infecciones que suelen ser graves y podrían poner en riesgo la vida, en particular en niños.
 - Echovirus
 - Virus Norwalk
 - Rotavirus, grupo A
 - Orbivirus
 - Parvovirus
- Un brote de gastroenteritis epidémica tuvo lugar en un campamento de verano en un sitio boscoso 24 h después de una fiesta para las familias visitantes. Algunos de los padres visitantes también se enfermaron. Las muestras tomadas dos semanas más tarde del pozo, que fue la fuente de agua potable en el campamento, resultaron negativas para bacterias coliformes fecales. La causa más probable de la epidemia fue:
 - Mosquitos o garrapatas, presentes en grandes cantidades en el área
 - Alimentos contaminados servidos en la fiesta
 - Un río cercano utilizado para pescar
 - Un padre de los visitantes con síntomas de neumonía
 - La alberca
- El agente de la gastroenteritis viral tiene un genoma de RNA de doble cadena, segmentado, y una cápside de doble cubierta. ¿A cuál familia de virus pertenece?
 - Adenoviridae
 - Astroviridae
 - Caliciviridae
 - Reoviridae
 - Coronaviridae
- El rotavirus y el virus Norwalk son virus distintos. Sin embargo, comparten una de las siguientes características:
 - Modo de transmisión fecal-oral
 - Principalmente causan enfermedad en infantes y niños pequeños
 - Por lo común inducen enfermedad leve en niños pequeños
 - Los patrones de infección no muestran variación estacional
 - Un genoma de RNA de doble cadena
- Debido a que las infecciones por rotavirus pueden ser graves, sería benéfica una vacuna. ¿Cuál enunciado es el más correcto con respecto a una vacuna para el rotavirus?
 - En EUA está en uso (2003) una vacuna de rotavirus humano muerto del grupo A
 - Se dejó de usar una vacuna de virus vivos atenuados debido a informes de intususcepción (1998)

- C. La preparación de la vacuna se complica por la variación antigénica rápida del virus
- D. Los fármacos antivirales disponibles hacen innecesaria la vacuna
- E. La obtención de la vacuna se complica debido a que el virus no se puede desarrollar en el cultivo celular

Respuestas: 1 = C; 2 = C; 3 = B; 4 = D; 5 = A; 6 = B

REFERENCIAS

- Glass RI *et al.*: The epidemiology of rotavirus diarrhea in the United States: Surveillance and estimates of disease burden. *J Infect Dis* 1996;174(Suppl 1):S5.
- Green KY, Chanock RM, Kapikian AZ: Human caliciviruses. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM: Rotaviruses. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Monroe SS, Ando T, Glass RI (guest editors): International Workshop on Human Caliciviruses. *J Infect Dis* 2000;181(Suppl 2). [Entire issue.]
- Smith AW *et al.*: Calicivirus emergence from ocean reservoirs: zoonotic and interspecies movements. *Emerg Infect Dis* 1998;4:13.

Enfermedades virales transmitidas por artrópodos y roedores

Los virus transmitidos por artrópodos (arbovirus) y los virus transmitidos por roedores representan agrupamientos ecológicos de virus con ciclos de transmisión complejos en los que intervienen artrópodos y roedores. Estos virus tienen diversas propiedades físicas y químicas y se clasifican en varias familias de virus.

Los artrópodos que succionan sangre transmiten los arbovirus de un huésped vertebrado a otro. El vector adquiere una infección de por vida por la ingestión de sangre de un vertebrado virémico. Los virus se multiplican en los tejidos del artrópodo sin evidencia de enfermedad o daño. Algunos virus se mantienen en la naturaleza mediante transmisión transovárica en los artrópodos.

Las principales enfermedades por arbovirus en todo el mundo son la fiebre amarilla, el dengue, la encefalitis japonesa B, la encefalitis de San Luis, la encefalitis equina occidental, la encefalitis equina oriental, la encefalitis rusa de primavera-verano, la fiebre del oeste del Nilo y la fiebre por la mosca flebómono. En EUA las infecciones arbovirales más importantes son la encefalitis equina oriental, la encefalitis equina occidental, fiebre del oeste del Nilo, la encefalitis de San Luis y la encefalitis de La Crosse.

Las enfermedades virales transmitidas por roedores se mantienen en la naturaleza por transmisión directa intraespecie o interespecie de roedor a roedor sin participación de vectores artrópodos. La infección viral por lo común es persistente. La transmisión se presenta por contacto con líquidos o excreciones corporales.

Las principales enfermedades virales transmitidas por roedores son infecciones por hantavirus, fiebre de Lassa y fiebres hemorrágicas de América del Sur. En EUA, las enfermedades más importantes transmitidas por roedores son el síndrome pulmonar por hantavirus y la fiebre por garrapatas de Colorado. También se consideran aquí las fiebres hemorrágicas africanas: Marburg y Ebola. Se desconocen sus huéspedes reservorios y vectores.

Los arbovirus y los virus transmitidos por roedores se clasifican entre las familias de arenavirus, bunyavirus, filovirus, flavivirus, reovirus y togavirus (cuadro 38-1, figura 38-1).

INFECCIONES POR ARBOVIRUS EN HUMANOS

Hay varios cientos de arbovirus, de los cuales casi 100 son patógenos humanos conocidos. Al parecer los que infectan al humano son zoonóticos y los humanos son huéspedes accidentales sin una participación importante en el ciclo de conservación o transmisión del virus. Las excepciones son la fiebre amarilla urbana y el dengue. Algunos de los ciclos naturales son simples e implican la infección de un huésped vertebrado no humano (mamífero o ave) transmitida por una especie de mosquito o garrapata (p. ej., fiebre amarilla selvática y la fiebre por la garrapata de Colorado). Sin embargo, otros son más complejos. Por ejemplo, la encefalitis transmitida por garrapatas puede presentarse después de ingerir leche cruda de cabras y vacas infectadas mediante pasturas infestadas por las garrapatas que viven en los pastos donde tiene lugar un ciclo garrapata-roedor.

Cada uno de los virus se denominaba a veces por una enfermedad (dengue, fiebre amarilla) o por el área geográfica donde se aislaba por primera vez el virus (encefalitis de San Luis, fiebre del oeste del Nilo). Los arbovirus se encuentran en todas las temperaturas y zonas tropicales, pero son más frecuentes en los trópicos con su abundancia de animales y artrópodos.

Las enfermedades producidas por arbovirus pueden dividirse en tres síndromes clínicos: 1) fiebre de tipo indiferenciado, con o sin erupción maculopapular y en general benigna; 2) encefalitis, casi siempre con una gran tasa de mortalidad; y 3) fiebre hemorrágica, también con frecuencia grave y mortal. Estas categorías son un poco arbitrarias y a veces algunos arbovirus se relacionan con más de un síndrome, por ejemplo, dengue.

El síndrome clínico está determinado por la magnitud de la multiplicación viral y por los tejidos donde se localizan de manera predominante. Así, los arbovirus individua-

Cuadro 38-1. Estado taxonómico de algunos virus transmitidos por artrópodos y roedores

Clasificación taxonómica	Arbovirus y miembros de los virus transmitidos por roedores importantes	Propiedades de los virus
Arenaviridae		
Género <i>Arenavirus</i>	Nuevo Mundo: virus Junin, Mapucho, Guanarito, Sabia; Arroyo Whitewater Viejo Mundo: virus Lassa y de coniomeningitis linfocítica. Transmisión por roedores	Esférico, 50 a 300 nm de diámetro (promedio 110 a 130 nm). Genoma: doble segmentado, sentido negativo y en ambos sentidos, RNA de una sola cadena, 10 a 14 kb de tamaño total. El virión contiene una transcriptasa. Cuatro polipéptidos principales. Cubierta. Replicación: citoplasma. Ensamblado: incorpora ribosomas y la yema a partir de las membranas plasmáticas
Bunyaviridae		
Género <i>Bunyavirus</i>	Anopheles A y B. Bunyamwera, encefalitis de California. Guama, La Crosse, Oropouche y virus de Turlok. Transmisión por artrópodos (mosquitos)	Esférico, 80 a 120 nm de diámetro. Genoma: triple segmentado, sentido negativo o en ambos sentidos, RNA de una sola cadena, 11 a 21 kb de tamaño total. Los viriones contienen una transcriptasa. Cubierta. Cuatro polipéptidos principales. Replicación: citoplasma. Ensamblado: gemación sobre las membranas lisas del sistema de Golgi
Género <i>Hantavirus</i>	Hantavirus (fiebre hemorrágica de Corea) virus de Seul (fiebre hemorrágica con síndrome renal), virus Sin Nombre (síndrome pulmonar por hantavirus). Transmisión por roedores	
Género <i>Nairovirus</i>	Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo, enfermedad de las ovejas de Nairobi y virus de Sakhalin. Transmisión por artrópodos (garrapatas)	
Género <i>Phlebovirus</i>	Virus de la fiebre del valle del Rift, de la fiebre de las moscas (<i>Phlebotomus</i>) y de Uukuniemi. Transmitidos por artrópodos (mosquitos, moscas, garrapatas).	
Filoviridae		
Género "parecido al de Marburg"	Virus Marburg	Filamentos largos, 80 nm de diámetro x longitud variable (> 10 000 nm), pero en promedio mayor de 1000 nm aproximadamente. Genoma: sentido negativo, no segmentado, RNA de una sola cadena, 19 kb de tamaño. Siete polipéptidos, cubierta. Replicación: citoplasma. Ensamblado: gemación en las membranas celulares
Género "parecido al del Ébola"	Virus Ébola	
Flaviviridae		
Género <i>Flavivirus</i>	Encefalitis brasileña (virus Rocío), dengue, encefalitis japonesa B, enfermedad del bosque de Kyasanur, enfermedad del brinco, encefalitis del valle Murray, fiebre hemorrágica de Omsk, encefalitis rusa de primavera-verano, encefalitis de San Luis, encefalitis transmitida por garrapata, fiebre del oeste del Nilo y virus de la fiebre amarilla. Transmitidos por artrópodos (moscas, garrapatas)	Esférico, 40 a 60 nm de diámetro. Genoma: sentido positivo, una sola cadena de RNA, 11 kb de tamaño. RNA de genoma infeccioso. Cubierta. Tres o cuatro polipéptidos estructurales, dos glucosilados. Replicación: citoplasma. Ensamblado: dentro del retículo endoplasmático. Todos los virus están relacionados serológicamente
Reoviridae		
Género <i>Coltivirus</i>	Virus de la fiebre por garrapata de Colorado. Transmitidos por artrópodos (garrapatas, moscas)	Esférico, 60 a 80 nm de diámetro. Genoma: 10 a 12 segmentos de RNA lineal de doble cadena, 16 a 27 kb de tamaño total. Sin cubierta. 10 a 12 polipéptidos estructurales. Replicación y ensamblado: citoplasma. (capítulo 37)
Género <i>Orbivirus</i>	Virus de la enfermedad africana de los equinos y de la lengua azul. Transmitidos por artrópodos (mosquitos)	
Togaviridae		
Género <i>Alphavirus</i>	Chikungunya, encefalitis equina occidental, Mayaro, Chikungunya, del río Ross, del bosque de Semiki, Sindbis y virus de las encefalitis equina occidental y venezolana. Transmitidos por artrópodos (mosquitos)	Esférico, 70 nm de diámetro, nucleocápside con 42 capsómeros. Genoma: en sentido positivo, una sola cadena de RNA, 9,7 a 11,8 kb de tamaño. Cubierta: tres o cuatro polipéptidos estructurales mayores, dos glucosilados. Replicación: citoplasma. Ensamblado: gemación a través de las membranas celulares del huésped. Todos los virus están relacionados serológicamente

les pueden producir enfermedad febril leve en algunos pacientes y encefalitis o diátesis hemorrágica en otros.

La infección por arbovirus que tiene una distribución geográfica y tiene patrones de vectores distintos (figura 38-2).

Cada continente tiende a mostrar su propio patrón de arbovirus y los nombres generalmente son sugerentes, por ejemplo, encefalitis equina venezolana, encefalitis japonesa B, encefalitis del Valle de Murray (Australia). Muchas encefalitis son

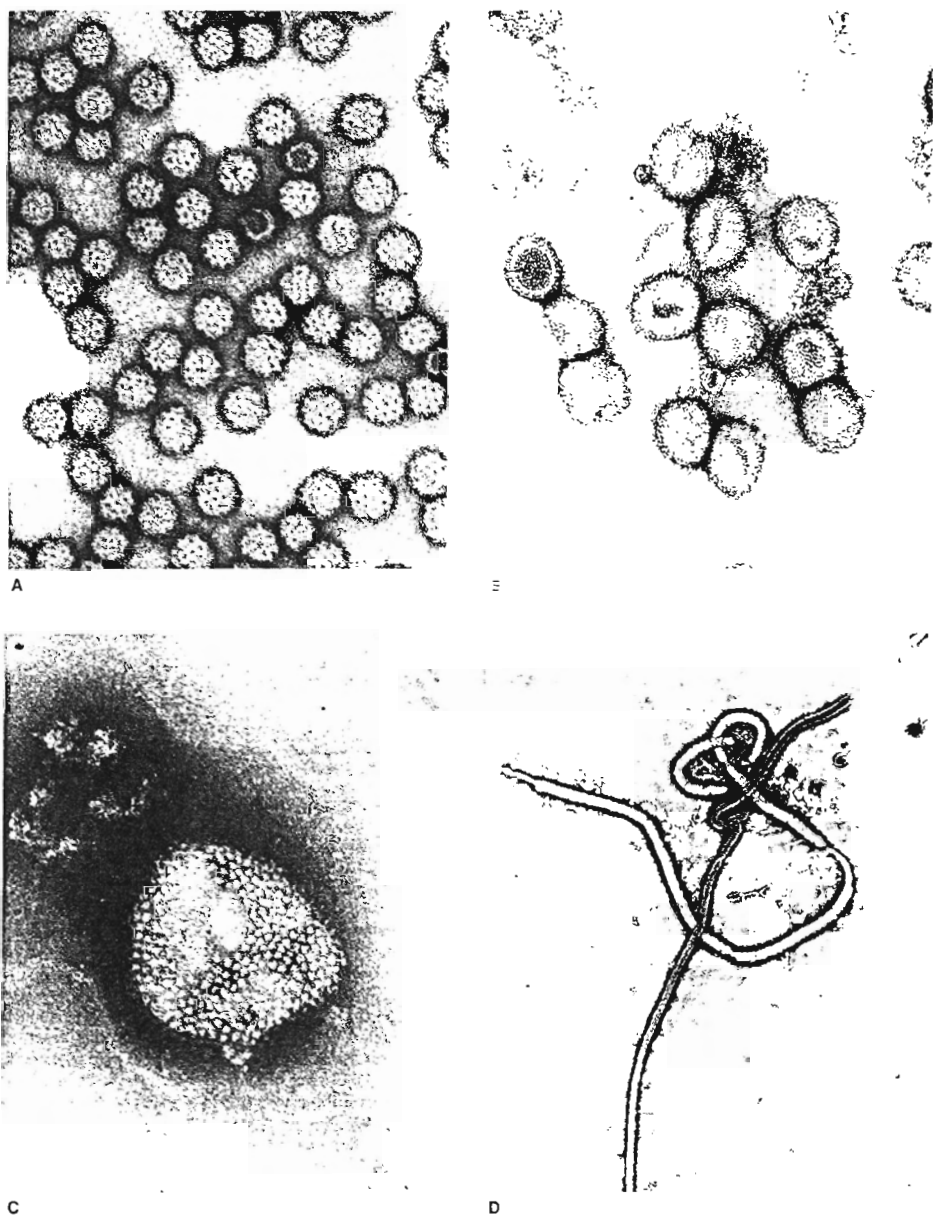


Figura 38-1. Micrografías electrónicas de arbovirus típicos y virus transmitidos por roedores. A: un alfavirus, virus del bosque de Semliki (*Togaviridae*). B: un miembro representativo de *Bunyaviridae*, virus de Uukuniemi. C: un arenavirus, el virus de Tacaribe. D: virus del Ébola, *Filoviridae*. (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

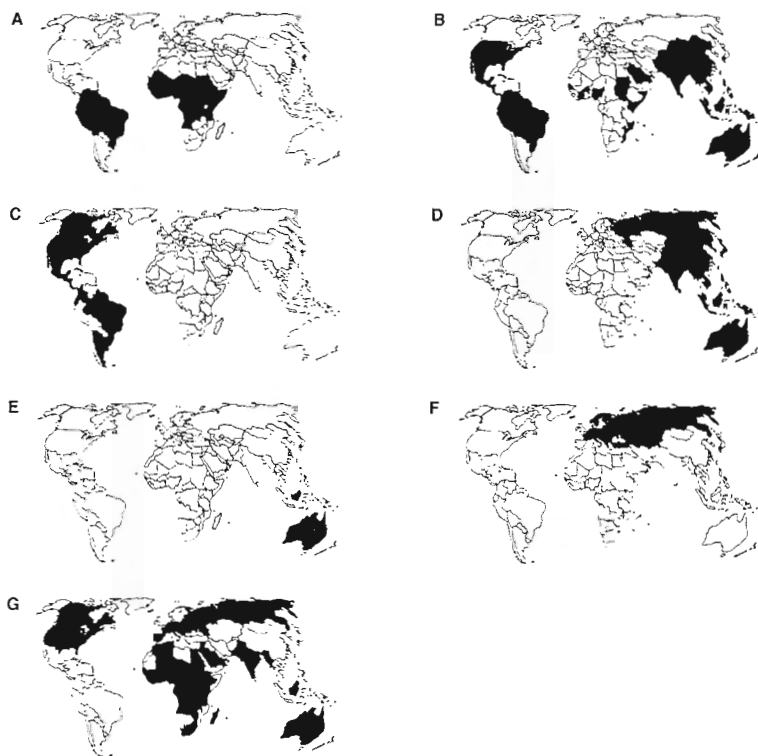


Figura 38-2. Distribuciones conocidas de flavivirus que causan enfermedad en los humanos. **A:** virus de la fiebre amarilla. **B:** virus del dengue. **C:** virus de la encefalitis de St. Louis. **D:** virus de la encefalitis japonesa B. **E:** virus de la encefalitis del valle Murray. **F:** virus de la encefalitis transmitida por garrapatas. **G:** virus del oeste del Nilo. (Reproducida con autorización de Monath TP, Tsai TF: Flaviviruses. En: *Clinical Virology*, 2a ed. Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG [editores]. ASM Press, 2002.)

infecciones por alfavirus y flavivirus que son diseminadas por los mosquitos, aunque el grupo de encefalitis de California se debe a bunyavirus. En un determinado continente puede haber una distribución variable según los huéspedes y los vectores del virus en un determinado año.

Varios arbovirus causan infecciones importantes en humanos en EUA (cuadro 38-2). El número de casos varía mucho de un año a otro.

ENCEFALITIS POR TOGAVIRUS Y FLAVIVIRUS

Clasificación y propiedades de los togavirus y flavivirus

En la familia *Togaviridae*, el género *Alphavirus* consiste en cerca de 30 virus de 70 nm de diámetro que poseen un genoma de RNA monocatenario de sentido positivo (cuadro 38-1). La envoltura que rodea la partícula contiene dos glu-

coproteínas. Los alfavirus suelen establecer infecciones persistentes en los mosquitos, y éstos u otros artrópodos succionadores de sangre las transmiten entre los vertebrados. Tienen una distribución a nivel mundial. Los alfavirus se relacionan por medio de un antígeno. El pH ácido, el calor, los disolventes lipídicos, los detergentes, el blanqueador, el fenol, el alcohol al 70% y el formaldehído inactivan a los virus. La mayoría posee capacidad hemaglutinante (figura 38-1). El virus de la rubéola, clasificado en un género aparte, carece de vector artrópodo y no es un arbovirus (véase capítulo 40).

Los arbovirus se encuentran en el género *Flavivirus* en la familia *Flaviviridae*. Al principio, los flavivirus se incluyeron en la familia de los togavirus como "arbovirus del grupo B", pero se pasaron a una familia aparte debido a diferencias en la organización genómica viral. La familia *Flaviviridae* consiste en unos 70 virus de 40 a 60 nm de diámetro que tienen un genoma de RNA de sentido positivo y una sola cadena. La envoltura viral contiene dos glucoproteínas. Los mosquitos y las garrapatas transmiten entre vertebrados al-

Cuadro 38-2. Resumen de los principales arbovirus humanos y de las infecciones por virus transmitidos por roedores que acontecen en EUA

Enfermedad	Exposición	Distribución	Vectores	Proporción infección: caso (incidencia por edad)	Secuelas ¹	Tasa de mortalidad
Encefalitis equina occidental (Alphavirus)	Rural	Costa del Atlántico sur	<i>Aedes</i>	10:1 (lactantes) 50:1 (adultos) 20:1 (adultos mayores)	+	50 a 70%
Encefalitis equina oriental (Alphavirus)	Rural	Pacífico, montañas, Suroeste	<i>Culex tarsalis</i>	50:1 (menor de 5) 1000:1 (mayor de 15)	+	3 a 7%
Encefalitis equina venezolana (Alphavirus)	Rural	Sur (también Sudamérica y Centroamérica)	<i>Aedes</i> <i>Psorophora</i> <i>Culex</i>	25:1 (menor de 15) 1000:1 (mayor de 15)	±	20 a 30% (niños) < 10 (adultos)
Encefalitis de San Luis (Flavivirus)	Rural-urbano	Ampliamente distribuido	<i>Culex</i>	800:1 (menor de 9) 400:1 (9 a 59) 85:1 (mayor de 60)	±	5 a 10% (menores de 65) 30% (mayores de 65)
Fiebre del oeste del Nilo	Rural-urbano	Extensa	<i>Culex</i> , <i>Aedes</i> , <i>Anopheles</i>	150:1	Desconocido	3 a 15%
Encefalitis de California (La Crosse) (Bunyavirus)	Rural	Centro norte del Atlántico sur	<i>Aedes triseriatus</i>	Proporción desconocida (la mejor parte de los casos menores de 20)	Raro	Cercana a 1%
Síndrome pulmonar por hantavirus (Bunyavirus)	Rural	Suroeste y oeste	<i>Peromyscus maniculatus</i> ²	Desconocido	Desconocido	30%
Fiebre de la garrapata de Colorado (Coltivirus)	Rural	Pacífico, montañas	<i>Dermacentor andersoni</i>	Proporción desconocida (se afectan todas las edades)	Raro	Muerte rara

¹ Secuelas: +, común; ±, ocasional² Roedor reservorio, no vector.

gunos flavivirus, en tanto que otros se transmiten entre roedores o murciélagos sin ningún vector insecto conocido. Muchos tienen distribución en el ámbito mundial. Los flavivirus se relacionan por medio de un antígeno. Los flavivirus se inactivan de manera similar a los alphavirus, y muchos también muestran capacidad hemaglutinante. El virus de la hepatitis C, clasificado en un género separado, carece de vector artrópodo y no es un arbovirus (véase capítulo 35).

Replicación de togavirus y flavivirus

El genoma de RNA del alphavirus es de sentido positivo (figura 38-3). Durante la transcripción se produce mRNA de longitud genómica y subgenómica (26S). El transcrito genómico largo produce una poliproteína precursora que codifica proteína no estructural (es decir, replicasa, transcriptasa) necesaria para la replicación viral. El mRNA subgenómico codifica las proteínas estructurales. Las proteínas se elaboran mediante escisión después de la traducción. Los alphavirus se duplican en el citoplasma y maduran mediante gemación de nucleocápsidas a través de la membrana plasmática. La información sobre la secuencia indica que el virus de la encefalitis

equina occidental es un recombinante genético de los virus Sindbis y de la encefalitis equina oriental.

El genoma de RNA de los flavivirus también es de sentido positivo. Durante la replicación del virus se produce una proteína precursora grande a partir del genoma largo del mRNA; se corta gracias a la acción de las proteasas virales y del huésped para producir todas las proteínas del virus. Los flavivirus se duplican en el citoplasma, y el ensamblado de las partículas tiene lugar en las vesículas intracelulares (figura 38-4). La proliferación de membranas intracelulares es una característica de las células infectadas por flavivirus.

Propiedades antigénicas de togavirus y flavivirus

Todos los alphavirus están interrelacionados antígenicamente. Debido a determinantes antígenicos comunes, los virus muestran reacción cruzada en técnicas de inmunodiagnóstico. Las pruebas de IH, ELISA e IF definen siete complejos antígenicos o serogrupos de alphavirus, tipificados por el virus de la encefalitis equina occidental, de la encefalitis equina orien-

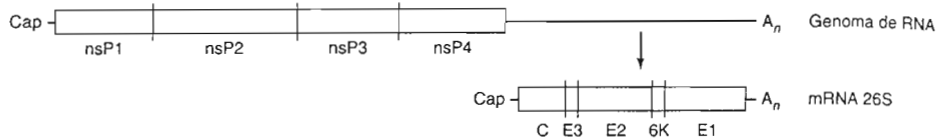


Figura 38-3. Organización genómica de los alfavirus. Las proteínas no estructurales (nsP) se traducen a partir del genoma de RNA como una poliproteína procesada en cuatro proteínas no estructurales por una proteasa viral presente en nsP2. Las proteínas estructurales se traducen a partir de un mRNA 26S subgenómico como una poliproteína procesada por una combinación de proteasas virales y celulares en una proteína de la cápside (C), tres glucoproteínas de la cubierta (E3, E2 y E1) y una proteína relacionada con la membrana llamada 6K. C, E2, y E1 son los componentes principales de los viriones y están sombreados en la figura. (Reproducido con autorización de Strauss JH, Strauss EG, Kuhn RJ: Budding of alphaviruses. Trends Microbiol 1995;3:346.)

tal, de la encefalitis equina venezolana, y de la selva de Semliki, de Middleburg, de Nduma y de la selva de Barmah. La identificación de un virus específico se puede lograr mediante pruebas de Nt. De manera similar, todos los flavivirus comparten sitios antígenicos. Al menos se han identificado ocho complejos antígenicos a partir de pruebas Nt. La proteína de envoltura (E) es la hemaglutinina viral y contiene los determinantes específicos de grupo, serocomplejo y tipo. Las comparaciones de secuencia del gen de la glucoproteína E muestran que los virus dentro de un complejo comparten más de 70% de secuencias de aminoácido, mientras que la homología de aminoácidos en los serocomplejos es menos de 50%.

Patogenia y patología

En huéspedes vertebrados susceptibles, la multiplicación viral primaria se presenta ya sea en las células mieloides o linfoides o en el endotelio vascular. La multiplicación en el sistema nervioso central (SNC) depende de la capacidad del virus para pasar la barrera hematoencefálica e infectar las células nerviosas. En la infección natural de aves y mamíferos es usual una infección invidente. Durante varios días hay viremia, y los vectores artrópodos adquieren el virus al succionar sangre durante este periodo; la primera etapa en su diseminación a otros huéspedes.

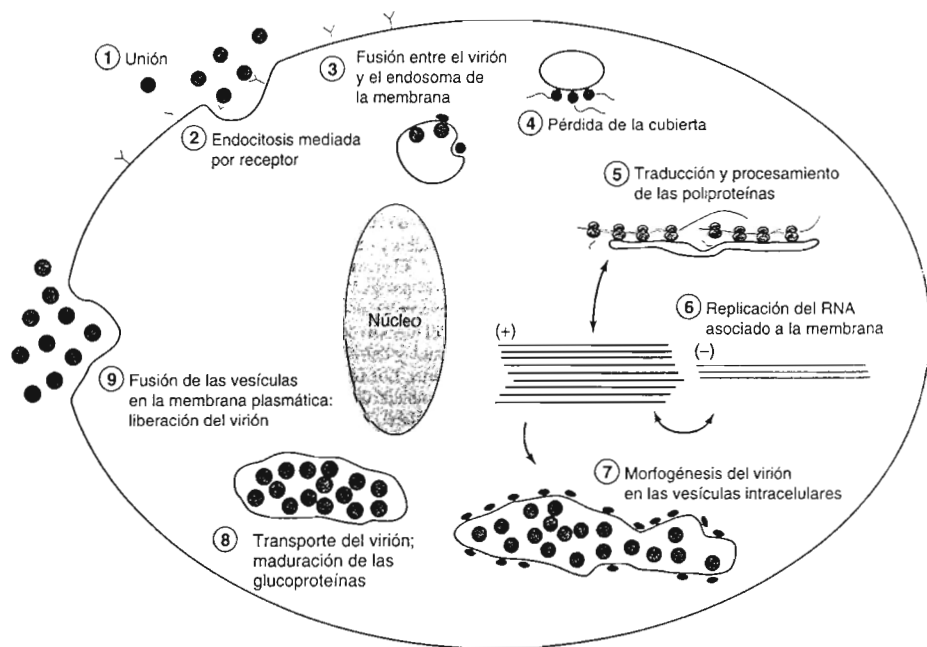


Figura 38-5. Ciclo de vida del flavivirus. (Cortesía de CM Rice.)

Se puede lograr un modelo de la enfermedad humana mediante la enfermedad en los animales de experimentación. Se han usado ratones para estudiar la patogénesis de la encefalitis. Después de la inoculación subcutánea, la duplicación del virus se presenta en tejidos locales y nodos linfáticos regionales. El virus entra al torrente sanguíneo y se disemina. Dependiendo del agente específico, los distintos tejidos apoyan la duplicación del virus, entre otros los macrófagos que derivan de monocitos, células endoteliales, pulmón, hígado y músculos. El virus cruza la barrera hematoencefálica mediante mecanismos conocidos, quizá con la participación de neuronas olfatorias o células vasculares cerebrales, y se difunde. En todas las encefalitis inducidas por arbovirus hay extensa propagación de la degeneración neuronal.

En la gran mayoría de infecciones, el virus se controla antes de que ocurra la neuroinvasión. La invasión depende de muchos factores, entre otros, el nivel de viremia, el fondo genético del huésped, las respuestas inmunes innatas y de adaptación del huésped y la virulencia de la cepa del virus. En los humanos se presenta una susceptibilidad que depende de la edad en relación con las infecciones del SNC, donde los infantes y ancianos son los más susceptibles.

Las encefalitis equinas en caballos son difásicas. En la primera fase (enfermedad menor), el virus se multiplica en tejido no neural y está presente en la sangre varios días antes de que haya signos de afectación del SNC. En la segunda fase (enfermedad mayor), el virus se multiplica en el cerebro, las células se lesionan y destruyen, y la encefalitis se vuelve evidente clínicamente. Las concentraciones altas del virus en el tejido cerebral son necesarias antes de que se vuelva manifiesta la enfermedad clínica.

Datos clínicos

El periodo de incubación de las encefalitis es de 4 a 21 días. El inicio es súbito con cefalea intensa, escalofríos y fiebre, náuseas y vómito, dolor generalizado y malestar. Entre 24 a 48 horas se desarrolla somnolencia notable y el paciente puede permanecer estuporoso. En casos graves aparecen confusión mental, temblores, convulsiones y coma. La fiebre dura 4 a 10 días. La tasa de mortalidad es variable en las encefalitis (cuadro 38-2). En la encefalitis japonesa B, la tasa de mortalidad en los grupos de mayor edad puede llegar hasta 80%. Las secuelas a veces incluyen deterioro mental, cambios de la personalidad, parálisis, afasia y signos cerebelosos. Algunas infecciones simulan meningitis aséptica o poliomielitis no parálitica. Son comunes las infecciones inaparentes.

Diagnóstico de laboratorio

A. Recuperación del virus y detección directa

Los intentos de aislamiento del virus requieren precauciones de bioseguridad apropiadas. El virus aparece en la sangre sólo al principio de la infección, por lo general antes del inicio de los síntomas. El virus también se puede encontrar en el líquido cefalorraquídeo, piel y muestras de tejido, dependiendo del agente. Los alfavirus y los flavivirus por lo común pueden crecer en líneas celulares comunes, como Vero, BHK, HeLa y MRC-5. Las líneas celulares del mos-

quito son útiles. La inoculación intracerebral de los ratones o hámsteres lactantes también se puede usar para el aislamiento del virus.

Se cuenta con las pruebas de detección de antígeno y reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección directa de RNA viral o proteínas en muestras clínicas para algunos arbovirus.

B. Serología

Pocos días después del inicio de la enfermedad se pueden detectar anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación. Los anticuerpos neutralizantes y los inhibidores de la hemaglutinación duran muchos años. La prueba de IH es la prueba diagnóstica más sencilla, pero identifica al grupo más que al virus específico causante. Los estudios serológicos más sensibles detectan IgM específica del virus en suero o líquido cefalorraquídeo mediante ELISA.

Es necesario comprobar un aumento del cuádruple o mayor de los anticuerpos específicos durante la infección para confirmar el diagnóstico. La primera muestra de suero debe colectarse lo más pronto posible después del inicio de la enfermedad y la segunda muestra 2 a 3 semanas más tarde. Al establecer el diagnóstico se debe considerar la reactividad cruzada entre los grupos alfavirus o flavivirus. Por tanto, después de una infección por alguno de los miembros del grupo, también pueden aparecer anticuerpos a los otros miembros. El diagnóstico serológico puede ser difícil cuando una epidemia debida a un miembro del grupo serológico se presenta en un área donde otro miembro del grupo es endémico.

Inmunidad

Se estima que la inmunidad es permanente después de una sola infección. En la protección y recuperación de la infección tal vez sean importantes las respuestas humoral y de la inmunidad celular. En las áreas endémicas la población a veces adquiere su inmunidad como resultado de infecciones inaparentes; la proporción de personas con anticuerpos al arbovirus local aumenta con la edad.

Debido a los antígenos comunes, la respuesta a la inmunización o a la infección con algún virus del grupo puede modificarse por la exposición previa a otro miembro del mismo grupo. Este mecanismo puede ser importante para conferir protección a una comunidad contra una epidemia por otro agente vinculado (p. ej., ausencia de la encefalitis japonesa B en las áreas endémicas para la fiebre del oeste del Nilo).

Epidemiología

En zonas altamente endémicas, casi toda la población de humanos se llega a infectar con un arbovirus; la mayoría de las infecciones son asintomáticas. Existe una alta proporción infección-casos en grupos de edad específicos para diversas infecciones por arbovirus (cuadro 38-2). En las epidemias graves causadas por virus productores de encefalitis, la tasa de casos es de casi 1:1000.

El virus de la encefalitis de San Luis es la causa más importante de encefalitis epidémica en humanos en Norte-

mérica (figura 38-2), causando casi 10 000 casos y 1 000 muertes a partir de que fue identificada por primera vez en 1933. Las tasas de seroprevalencia por lo general son bajas, y la incidencia de la encefalitis de San Luis continúa variando cada año en EUA. En la epidemia de encefalitis de San Luis que tuvo lugar en Houston en 1964 (712 casos informados), hubo una tasa de infección inaparente de 8% en un muestreo al azar en la ciudad, pero en el área epidémica de la ciudad la tasa de infección inaparente fue de 34%. La proporción infección-caso permaneció casi igual. Es evidente que se requiere la presencia de mosquitos infectados para que haya infección en humanos, aunque los factores culturales y socioeconómicos (aire acondicionado, mosquiteros, control de mosquitos) afectan el grado de exposición de la población a estos vectores portadores del virus.

Un miembro del complejo antigénico de flavivirus de la encefalitis japonesa B causa la fiebre del oeste del Nilo. Se presenta en Europa, el Medio Oriente, África, la antigua Unión Soviética y el sudeste de Asia. Apareció de forma inesperada en EUA en el área de la ciudad de Nueva York en 1999, y produjo siete muertes y mortalidad extensa en diversas aves domésticas y exóticas. En la secuencia de análisis de aislados del virus se observó que se originó en el Medio Oriente, y es probable que haya cruzado el Atlántico en un ave infectada, mosquito o viajero humano.

En tres años el virus del Nilo oriental había completado el movimiento transcontinental por EUA y se estableció de forma permanente en la zona templada de Norteamérica. Una epidemia en 2002 en EUA fue la meningoencefalitis más grande por arbovirus registrada en el hemisferio occidental. Se dieron a conocer 3 389 casos de enfermedad en humanos por virus del Nilo occidental, 69% con meningoencefalitis y 21% con fiebre del oeste del Nilo. El máximo epidémico de la enfermedad humana ocurrió a finales de agosto. Más de 9 000 casos se presentaron en caballos. La actividad epizootica y epidémica fue más intensa en la parte central de EUA. La epidemia del virus del oeste del Nilo de 2002 incluyó los primeros casos documentados de transmisión persona a persona por trasplante de órgano, transfusión de sangre y quizá por amamantar.

Varias especies de mosquitos transmiten el virus, sobre todo la especie *Culex*. El control de los mosquitos es la estrategia más importante para evitar la transmisión del virus a los humanos.

El virus del oeste del Nilo produce viremia y una enfermedad febril leve y aguda con linfadenopatía y exantema. La afectación meníngea transitoria podría presentarse durante la etapa aguda. El virus podría producir encefalitis fatal en personas ancianas. Sólo existe un tipo antigénico de virus y se supone que la inmunidad es permanente.

En 2003 se logró obtener una vacuna del oeste del Nilo para caballos. No hay vacuna humana.

La encefalitis equina oriental es la más grave de las encefalitis arbovirales, con la tasa más alta de casos fatales. Las infecciones son raras y esporádicas en EUA. Las infecciones invidentes son inusuales. En el caso de la encefalitis equina occidental, la transmisión se presenta en un nivel bajo en la zona occidental rural, donde pájaros y mosquitos *Culex tarsalis* participan en el mantenimiento del ciclo del virus. Las infecciones humanas y equinas rara vez se presentan fuera del ciclo de mantenimiento. Sin embargo, en

el pasado ha habido casos (el más reciente en 1987) donde los humanos y caballos se han infectado a niveles epidémicos y epizooticos. Los brotes detectados a menudo afectan regiones muy extensas del occidente de EUA y Canadá.

La encefalitis japonesa B es la principal causa de encefalitis viral en Asia (figura 38-2). Cerca de 50 000 casos se presentan anualmente en China, Japón, Corea y el subcontinente indio, con 10 000 muertes, la mayoría en niños y personas de edad avanzada. Un porcentaje alto de sobrevivientes tiene secuelas neurológicas y psiquiátricas. Los estudios de seroprevalencia indican exposición casi universal al virus de la encefalitis japonesa B en la edad adulta. La proporción estimada entre la infección asintomática y la sintomática de 300:1. Se tienen informes de que las infecciones durante los trimestres primero y segundo del embarazo originan muerte fetal.

Ciclos de transmisión huésped-vector del arbovirus

La infección de humanos por virus de encefalitis transmitida por mosquitos se presenta cuando un mosquito, como *C. tarsalis* o *Culex pipiens*, u otro artrópodo, pica primero a un animal infectado y más tarde a un humano.

Las encefalitis equinas, occidental, oriental y venezolana, se transmiten por mosquitos culicidos a equinos o humanos en un ciclo mosquito-ave-mosquito (figura 38-5). Los equinos, igual que los humanos, son huéspedes no indispensables para la conservación del virus. Tanto la encefalitis equina venezolana como la occidental son graves en los caballos y matan hasta 90% de los animales afectados. La encefalitis equina occidental epizootica produce con menor frecuencia la muerte del equino. Además, la encefalitis equina oriental produce episodios graves en ciertas aves domésticas. Existe también un ciclo mosquito-ave-mosquito en las encefalitis de San Luis, del virus del oeste del Nilo y la japonesa B. Los cerdos son huéspedes importantes de la encefalitis japonesa B. Los mosquitos permanecen infectados durante toda su vida (varias semanas a meses). Sólo las hembras se alimentan de sangre y pueden mantener y transmitir el virus más de una vez. Las células del intestino medio del mosquito son el sitio de multiplicación viral primaria. Esto va seguido por viremia e invasión de órganos, principalmente glándulas salivales y tejido nervioso, donde ocurre la multiplicación viral secundaria. El artrópodo se mantiene sano.

La infección en los murciélagos insectívoros con arbovirus produce viremia que dura 6 a 12 días sin enfermedad o cambio patológico alguno en el murciélago. Cuando la concentración viral es alta, el murciélago puede infectar a los mosquitos, los cuales son capaces después de transmitir la infección a las aves silvestres y domésticas y también a otros murciélagos.

También hay encefalitis por flavivirus que transmiten las garrapatas, como la encefalitis rusa de primavera y verano. Esta enfermedad aparece principalmente a principios del verano, sobre todo en humanos expuestos a las garrapatas *Ixodes persulcatus* e *Ixodes ricinus* en matorrales expuestos. Las garrapatas pueden infectarse en cualquier etapa de su metamorfosis y el virus se transmite por vía transovárica.

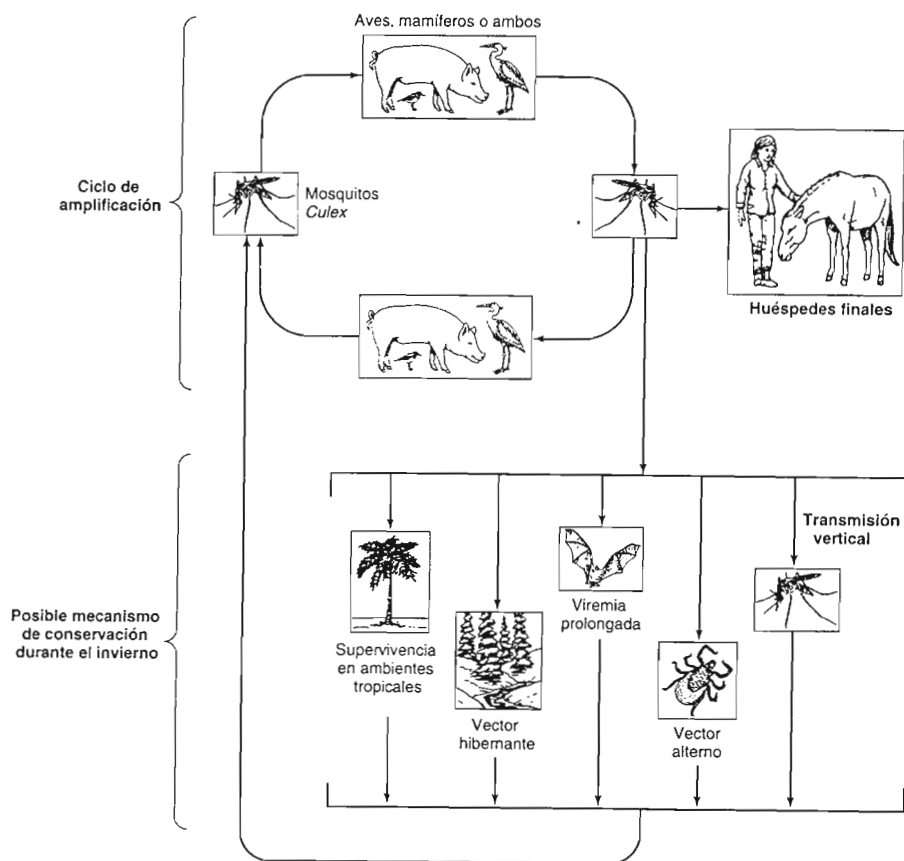


Figura 38-5. Ciclo de transmisión generalizada de los flavivirus transmitidos por mosquitos que causan encefalitis. Se ilustran el desarrollo de la época de verano y los posibles mecanismos de hibernación. Los humanos son huéspedes terminales y no contribuyen a la perpetuación de la transmisión del virus. Las aves salvajes son los huéspedes vírémicos más comunes, pero los cerdos desempeñan una función importante en el caso del virus de la encefalitis japonesa. El patrón mostrado se aplica a muchos flavivirus (pero no a todos). (Adaptada de Monath TP, Heinz FX: Flaviviruses. En: *Fields Virology*, 3a ed. Fields BN et al [editores]. Lippincott-Raven, 1996).

(figura 38-6). El virus se secreta durante periodos muy prolongados en la leche de las cabras infectadas, y la infección puede transmitirse a quienes beben esa leche sin pasteurizar. El virus de la encefalitis de Powassan es el primer miembro del complejo ruso del periodo primavera-verano aislado en Norteamérica. El primer caso mortal fue informado en Canadá, en 1959. La infección en humanos es poco común.

Periodo de hibernación del arbovirus

La epidemiología de las encefalitis transmitidas por artrópodos debe explicar la conservación y diseminación del vi-

rus en la naturaleza en ausencia de humanos. Se han aislado virus en mosquitos y garrapatas, los cuales son reservorios de la infección. En las garrapatas los virus pueden pasar de una generación a la siguiente por la ruta transovárica, y en estos casos la garrapata actúa como un verdadero reservorio del virus y también como su vector (figura 38-6). En los climas tropicales donde las poblaciones de mosquitos están presentes durante todo el año, los arbovirus siguen un ciclo continuo entre mosquitos y reservorios animales.

En climas templados, el virus puede reintroducirse cada año desde el exterior (p. ej., por aves migratorias de áreas tropicales) o puede sobrevivir el invierno en el área local. Los mecanismos posibles, pero no demostrados de sobrevi-

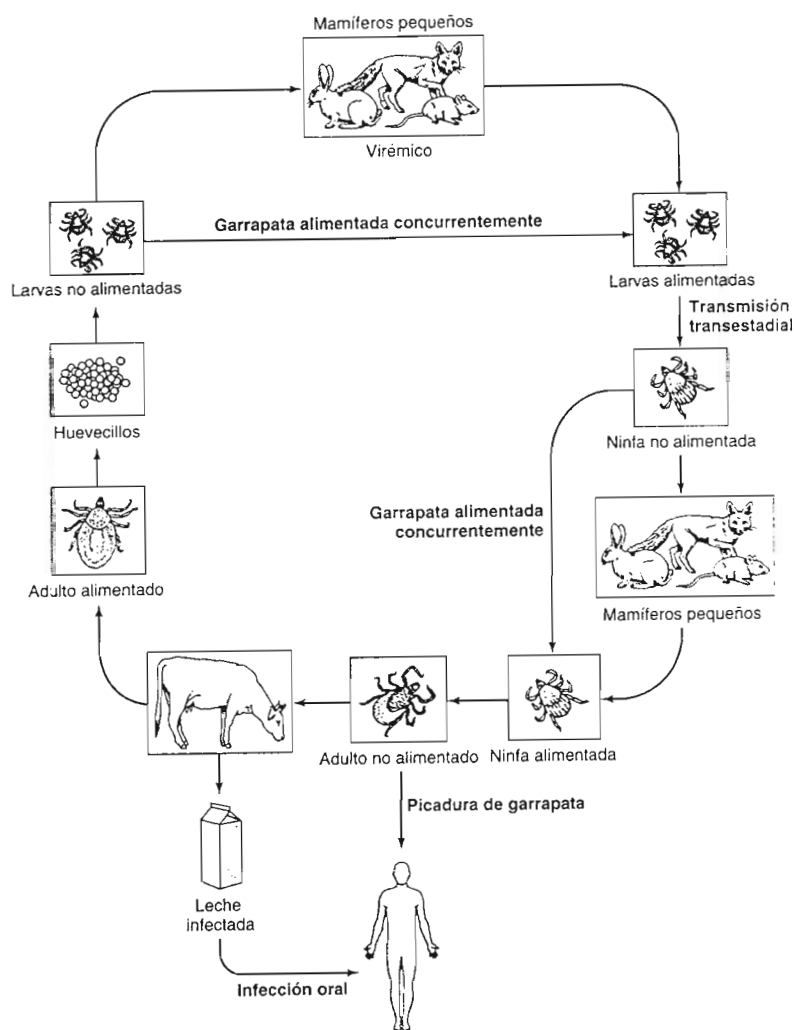


Figura 38-6. Ciclo general de transmisión de los flavivirus transmitidos por garrapatas, para mostrar los huéspedes para las larvas de garrapatas, ninfas y adultos. El virus se pasa a las etapas sucesivas de la garrapata durante la muda (transmisión transtetadial) y también transováricamente a la progenie de las garrapatas adultas. En la transmisión participan las garrapatas macho y hembra. El virus de la encefalitis transmitida por garrapata puede transmitirse por garrapatas no infectadas que se alimentan de manera concurrente sobre un huésped vertebrado sin el requisito de la infección virémica activa del huésped. (Adaptada de Monath TP, Heinz FX: Flaviviruses. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

vencia en el invierno incluyen lo siguiente (figuras 38-5 y 38-6): 1) mosquitos en estado de hibernación, que cuando vuelven a surgir pueden reinfectar aves, 2) el virus puede permanecer latente en el invierno entre aves, mamíferos o artrópodos; y 3) los vertebrados de sangre fría (serpientes, tortugas, lagartijas, lagartos, ranas) pueden actuar como re-

servorios invernales. Los mosquitos normales pueden infectarse al alimentarse de las serpientes que salen de la hibernación y transmitir entonces el virus. Se han encontrado virus en la sangre de las serpientes silvestres.

Los mosquitos están estrechamente relacionados con los murciélagos, en el verano y durante el invierno (en los cielos).

de hibernación). Experimentalmente, se ha demostrado que los mosquitos transmiten el virus a los murciélagos y que éstos pueden mantener una infección viral latente sin viremia detectable durante más de tres meses a 10 °C. Cuando los murciélagos retornan a la temperatura ambiente aparece viremia. El ciclo mosquito-murciélago-mosquito es un posible mecanismo de algunos arbovirus para la supervivencia durante el invierno.

Tratamiento y control

No hay un tratamiento específico. El control biológico del huésped vertebrado natural generalmente es impráctico, en especial cuando los huéspedes son aves silvestres. El método más eficaz es controlar al artrópodo. Como el periodo de viremia en el vertebrado es de corta duración (3 a 6 días para la encefalitis de San Luis en aves), toda supresión del vector durante este periodo rompe el ciclo de transmisión. Durante los brotes urbanos, las personas deben evitar los mosquitos mediante repelentes y el uso de ropas protectoras. Las casas habitación deben contar con mosquiteros adecuados en las ventanas.

Existen vacunas eficaces de virus muerto para proteger a los caballos de las encefalitis oriental, occidental y venezolana. Con el fin de restringir la epidemia entre caballos se tiene una vacuna excelente de virus vivo atenuado para la encefalitis equina venezolana. En países de Asia se ha usado una vacuna de virus muerto para la encefalitis japonesa B. En el ámbito experimental se cuenta con vacunas humanas inactivadas contra la encefalitis equina oriental, occidental y venezolana para proteger a los trabajadores de laboratorios.

FIEBRE AMARILLA

El virus de la fiebre amarilla es el miembro prototipo de la familia *Flaviviridae*. Éste causa fiebre amarilla, una enfermedad aguda, febril, transmitida por mosquitos que se presenta sólo en África y Centro y Sudamérica (figura 38-2). Varios casos se caracterizan por disfunción renal y hepática y hemorragia, con mortalidad alta.

El virus de la fiebre amarilla es un flavivirus único; no ha sido asignado a un serotipo antigénico específico. Se multiplica en muchos tipos de animales y en mosquitos y crece en huevos en embrión, cultivos de células de embrión de pollo y líneas celulares, entre otras, las de mono, humano, hámster y mosquito.

Patogenia y patología

El virus se introduce mediante un mosquito a través de la piel y luego se propaga a los ganglios linfáticos locales, donde se multiplica. A partir de los ganglios linfáticos entra a la circulación y se localiza en hígado, bazo, riñón, médula ósea y órganos linfáticos, donde puede persistir varios días.

Las lesiones de la fiebre amarilla se deben a la localización y propagación del virus en un órgano particular. Las infecciones podrían dar como resultado lesiones necróticas en hígado y riñón. La distribución de la necrosis en el hígado

do puede ser en puntos discretos, pero es más evidente en la zona media de los lóbulos. En el riñón hay degeneración grasa del epitelio tubular. También tienen lugar cambios degenerativos en el bazo, los ganglios linfáticos y el corazón. Puede haber edema cerebral y hemorragias petequiales. La enfermedad grave se caracteriza por hemorragia y colapso circulatorio. La lesión del miocardio por virus podría contribuir al choque.

Datos clínicos

El periodo de incubación es de 3 a 6 días. En el inicio abrupto, el paciente tiene fiebre, escalofríos, cefalea, mareo, mialgia y dolor de espalda, seguidos de náuseas, vómito y bradicardia. Durante este "periodo de infección" inicial, que dura varios días, el paciente es virémico y una fuente de infección para los mosquitos. Podría haber un abatimiento breve de fiebre y síntomas; algunos pacientes se recuperan en este punto. En otros, el "periodo de intoxicación" comienza con la reaparición de fiebre alta y el inicio de ictericia y disfunción renal. En casos graves, aparecen proteinuria acentuada y manifestaciones hemorrágicas. El vómito puede ser negro con sangre modificada. Algunos pacientes tienen anomalías de coagulación. A medida que la enfermedad avanza a la etapa grave (vómito negro e ictericia), la tasa de mortalidad es alta (20% o mayor). La muerte se presenta en los días 7 a 10 de la enfermedad.

Por otro lado, la infección puede ser tan leve que pasa desapercibida. Cualquiera que sea la gravedad no deja secuelas; los pacientes mueren, o bien, se recuperan por completo.

Diagnóstico de laboratorio

A. Detección o aislamiento del virus

El virus puede ser recuperado de la sangre los primeros cuatro días después del inicio, de tejido hepático *post mortem* por inoculación intracerebral de ratones, o bien, mediante el uso de líneas celulares de mosquito. El antígeno del virus o el ácido nucleico se identifica en muestras de tejido por medio de pruebas de inmunohistoquímica, ELISA, captura de antígeno o PCR.

B. Serología

Los anticuerpos no siempre están presentes durante la primera semana de enfermedad. La detección de anticuerpo IgM mediante captura por ELISA en una sola muestra proporciona un diagnóstico probable, con confirmación por un aumento del cuádruplo o mayor en título de anticuerpo neutralizante entre las muestras de suero de la fase aguda y de convalecencia. La prueba ELISA ha sustituido en gran parte a los métodos serológicos más antiguos, como IH. Los anticuerpos específicos que inhiben la hemoaglutinación aparecen primero, seguidos rápidamente de anticuerpos para otros flavivirus.

Inmunidad

Los anticuerpos neutralizantes se desarrollan a casi una semana de la enfermedad y se les atribuye la eliminación del

virus. En pacientes que sobreviven a la infección, los anticuerpos neutralizantes duran toda la vida y proporcionan protección completa contra la enfermedad.

Epidemiología

Se reconocen dos principales ciclos de transmisión de la fiebre amarilla: 1) fiebre amarilla urbana y 2) fiebre amarilla selvática (figura 38-7). La fiebre amarilla urbana implica transmisión de persona a persona por el mosquito *Aedes* doméstico. En el hemisferio occidental y el occidente de África esta especie es principalmente el *Aedes aegypti* que vive en las aguas estancadas relacionadas con los asentamientos humanos. La fiebre amarilla ha desaparecido de áreas donde se eliminó o suprimió la especie *A. aegypti*.

La fiebre amarilla selvática es primordialmente una enfermedad de los monos. En Sudamérica y África se transmite de un mono a otro por mosquitos arborícolas (p. ej.,

Haemagogus, *Aedes*) que habitan en la parte superior húmeda de los bosques. La infección en animales puede ser grave o invidente. El virus se multiplica en los mosquitos, que permanecen infecciosos de por vida. Las personas que participan en actividades de tala de bosques tienen contacto con estos mosquitos y se infectan.

La fiebre amarilla nunca ha invadido Asia, aunque el vector, *A. aegypti*, tiene una distribución amplia allí.

Continúa la aparición de nuevos brotes. La mayor parte se presenta en África. El informe es de unos 5 000 casos de fiebre amarilla al año, pero la incidencia actual es de hecho mucho mayor. Por lo común las epidemias se presentan en una zona de aparición característica para la fiebre amarilla: sabana húmeda y semihúmeda cercana a un bosque lluvioso donde se mantiene el ciclo selvático en una gran población de monos. Durante epidemias en África, la relación infección-caso varía de 20:1 a 2:1. Todos los grupos de edad son susceptibles, pero la enfermedad en infantes es más leve que en grupos de ancianos.

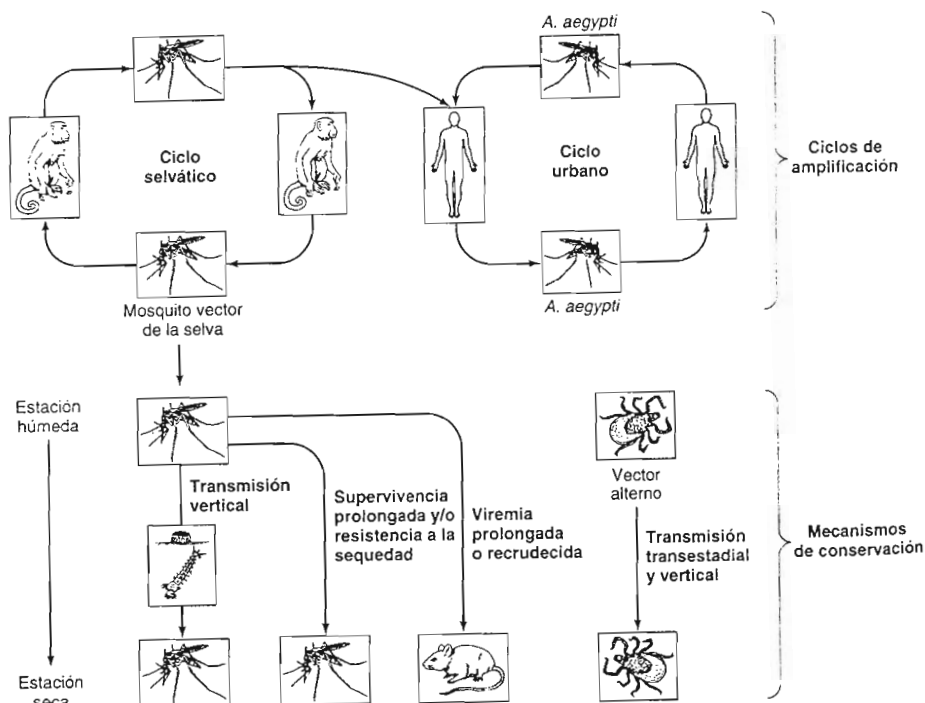


Figura 38-7. Ciclos de transmisión de la fiebre amarilla y del dengue. Estos virus tienen un ciclo de conservación enzootico que implica vectores *Aedes* y primates no homínidos. Los virus del dengue se transmiten principalmente entre los humanos y los *Aedes aegypti* criados en reservorios de agua doméstica. En el caso de la fiebre amarilla, la transmisión selvática está ampliamente propagada a través de la distribución geográfica del virus. En América tropical, los casos de fiebre amarilla humana derivan del contacto con los mosquitos vectores de la selva, y no se han reportado casos de fiebre amarilla urbana (transmitida por el *A. aegypti*) durante más de 50 años. En África, los vectores selváticos se encargan de la transmisión del virus entre los humanos y de un mono a otro, hay frecuente participación del *A. aegypti* en las regiones de la sabana seca y urbana. (Adaptado de Monath TP, Heinz FX: Flaviviruses. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

Se informan cerca de 500 casos por año en Sudamérica, sobre todo en Perú, Bolivia y Brasil. La fiebre amarilla en América presenta características epidemiológicas comunes de su ciclo en la selva: la mayor parte de los casos se da en varones de 15 a 45 años de edad que participan en actividades agrícolas y forestales.

La fiebre amarilla continúa infectando y matando a miles de personas en el ámbito mundial porque no han sido inmunizadas. Se estima que, al año, la fiebre amarilla ataca a 200 000 personas, de las cuales mueren cerca de 30 000.

Tratamiento, prevención y control

No hay terapia farmacológica antiviral.

Los programas energéticos de abatimiento de mosquitos han eliminado la fiebre amarilla urbana. El último brote de fiebre amarilla del que se tiene conocimiento en EUA ocurrió en 1905. Sin embargo, con la velocidad del viaje aéreo moderno, existe la amenaza de un brote de fiebre amarilla siempre que esté presente *A. aegypti*. Muchos países insisten en el control apropiado de mosquitos en aviones y la vacunación de las personas por lo menos 10 días antes de llegar a una zona endémica o provenir de ella. La obligación de vacunación contra la fiebre amarilla para los viajeros que entran a EUA se eliminó en 1972.

La cepa 17D del virus de fiebre amarilla es una excelente vacuna de virus vivo atenuado. Durante el paso en serie de una cepa pantrópica de virus de fiebre amarilla por cultivos de tejido se recuperó la cepa 17D relativamente avirulenta. Esta cepa perdió su capacidad para inducir enfermedad viscerotrópica o neurotrópica y se ha usado como vacuna por más de 40 años.

Se llevó a cabo la secuenciación de la cepa Asibi virulenta del virus de la fiebre amarilla y su secuencia se comparó con la de la cepa de la vacuna 17D, que se derivó de ésta. Estas dos cepas se separaron por medio de más de 240 pasos. Los dos genomas de RNA (10 862 nucleótidos de largo) difieren en 68 posiciones de nucleótido, dando como resultado un total de 32 diferencias de aminoácidos.

La vacuna se preparó en huevos y se distribuyó como un polvo seco. Es un virus vivo y se debe mantener frío. Una sola dosis produce una buena respuesta de anticuerpos en más de 95% de las personas vacunadas, que persiste durante por lo menos 10 años. Después de la vacunación, el virus se multiplica y es posible aislarlo de la sangre antes de que se desarrollen anticuerpos.

La vacunación está contraindicada para infantes menores de nueve meses de edad, durante el embarazo y en personas con sistemas inmunes alterados (p. ej., inmunodeficiencia humana, infección por virus, malignidad, trasplante de órganos).

La vacuna 17D es segura. Desde 1965 se han administrado cerca de 300 millones de dosis de vacuna de fiebre amarilla. A nivel mundial ha habido menos de dos docenas de casos de enfermedad neurotrópica relacionada con la vacuna (encefalitis posvacunal), muchos de los cuales se presentaron en infantes. En 2000, se describió un síndrome grave conocido como enfermedad viscerotrópica relacionada con la fiebre amarilla. Se informó de 10 casos de falla múltiple del sistema orgánico en receptores

de la vacuna en EUA a una frecuencia de casi 1:400 000 personas.

La vacunación es la medida preventiva más eficaz contra la fiebre amarilla, una infección potencialmente grave con un alto índice de muertes para la que no hay tratamiento específico.

DENGUE

El dengue (fiebre quebrantahuesos) es una infección transmitida por mosquitos caracterizada por fiebre, dolor muscular y articular, linfadenopatía y exantema. Una forma grave de la enfermedad, el síndrome del choque hemorrágico del dengue, afecta sobre todo a los niños.

Datos clínicos

La enfermedad clínica comienza de 2 a 7 días después de una picadura infectante de un mosquito. El inicio de la fiebre puede ser súbito o con síntomas prodrómicos de malestar, escalofríos y cefalea. Pronto aparece dolor, sobre todo en espalda, articulaciones, músculos y globos oculares. La viremia se presenta al inicio de la fiebre y podría persistir durante 3 a 5 días. La temperatura retorna a lo normal después de 5 a 6 días, o puede ceder casi al tercer día e incrementarse de nuevo alrededor de 5 a 8 días después del inicio ("variante en silla de montar"). Son característicos mialgia y dolor óseo intenso (fiebre quebrantahuesos). Puede aparecer exantema (maculopapular o escarlatiniforme) al tercero o cuarto días y persistir durante 1 a 5 días; se atenúa con la descamación. Con frecuencia los ganglios linfáticos están aumentados de tamaño. Regularmente hay leucopenia con linfocitosis relativa. La fiebre clásica del dengue es una enfermedad autolimitada. La convalecencia puede tardar varias semanas, aunque las complicaciones y la muerte son raras. Sobre todo en niños pequeños, el dengue puede ser una enfermedad febril leve que dura un corto tiempo.

Un síndrome más grave, la **fiebre por dengue hemorrágico**, se presenta a veces en personas (comúnmente niños) que adquirieron anticuerpos en forma pasiva (como anticuerpo materno) o produjeron endógenamente anticuerpos heterólogos al dengue. Aunque los síntomas iniciales simulan dengue normal, las condiciones del paciente bruscamente empeoran. Puede sobrevenir **síndrome de choque por dengue**, caracterizado por estado de choque y hemoconcentración. Una evidencia circunstancial sugiere que la infección secundaria con dengue tipo 2 que sigue a una infección tipo 1 es un factor de riesgo particular para enfermedad grave. La patogenia del síndrome grave implica anticuerpos a dengue preexistentes. Se postula que la formación de complejos virus-anticuerpo sucede pocos días después de la segunda infección por dengue y que el incremento de los anticuerpos no neutralizantes promueve la infección de un mayor número de células mononucleares, seguida por la liberación de citocinas, mediadores vasoactivos y procoagulantes, los cuales conducen a la coagulación intravascular diseminada observada en el síndrome de fiebre por dengue hemorrágico.

Diagnóstico de laboratorio

Es difícil aislar el virus. Los nuevos aislados no son patógenos para ratones infantiles y no causan efectos citopáticos en cultivos celulares. Los métodos basados en la PCR están disponibles para la rápida identificación y subtipificación. Los anticuerpos neutralizantes e inhibidores de la hemaglutinación aparecen siete días después del inicio de la fiebre por dengue. Los anticuerpos homotípicos tienden a alcanzar títulos más altos que los de los heterotípicos.

Inmunidad

Existen cuatro serotipos de virus que se pueden distinguir por medio de pruebas de NI. La infección confiere protección de por vida contra ese serotipo, pero la protección cruzada entre serotipos es de corta duración. La reinfección con un virus de un serotipo distinto después del ataque primario tiene más probabilidades de producir enfermedad grave (fiebre por dengue hemorrágico).

Los virus del dengue y la fiebre amarilla se relacionan por medio de un antígeno, pero esto no produce inmunidad cruzada importante.

Epidemiología

La distribución de los virus del dengue es a nivel mundial en regiones tropicales (figura 38-2). La mayor parte de las regiones subtropicales y tropicales alrededor del mundo donde existen vectores *Aedes* son regiones endémicas. En los últimos 20 años, el dengue epidémico ha surgido como un problema en el Continente Americano. En 1995, más de 200 000 casos de dengue y más de 5 500 casos de fiebre por dengue hemorrágico se detectaron en América Central y Sudamérica. Los patrones cambiantes de la enfermedad probablemente se relacionan con el crecimiento rápido de las poblaciones urbanas, el hacinamiento y el relajamiento de los esfuerzos para controlar los diferentes mosquitos.

Se ha estimado que anualmente hay 50 millones de casos de dengue, o más, a escala mundial, con 400 000 casos de fiebre por dengue hemorrágico. Esta última es una causa principal de muerte infantil en varios países asiáticos.

El riesgo de síndrome de fiebre hemorrágica es de casi 0.2% durante la primera infección por dengue, pero es por lo menos 10 veces mayor durante la infección con un segundo serotipo del virus del dengue. La tasa de muertes a causa de fiebre por dengue hemorrágico puede alcanzar 15%.

La relación de infecciones inevidentes a evidentes es variable, pero podría ser de casi 15:1 para infecciones primarias; la relación es menor en infecciones secundarias.

En comunidades urbanas, las epidemias de dengue son explosivas y afectan a porciones considerables de la población. Suelen comenzar durante la temporada de lluvias, cuando abunda el mosquito transmisor *A. aegypti* (figura 38-7). El mosquito se reproduce en climas tropicales o semitropicales en receptáculos que contienen agua o en plantas cercanas a las viviendas.

A. aegypti es el mosquito vector primario para el dengue en el hemisferio occidental. La hembra contrae el virus

cuando se alimenta de humanos virémicos. Después de un periodo de 8 a 14 días los mosquitos son infectantes y probablemente permanecen así el resto de su vida (1 a 3 meses). En los trópicos, los mosquitos que viven todo el año mantienen la enfermedad.

La Segunda Guerra Mundial fue responsable de la propagación del dengue a partir del sureste de Asia a Japón y a las Islas del Pacífico. En 1977, se aisló un virus dengue tipo 1 de mosquitos y pacientes en Jamaica, desde donde se propagó a las Bahamas, Trinidad, Cuba y EUA. Ésta fue la primera vez que se aisló un virus tipo 1 en el hemisferio occidental. En 1981, el dengue tipo 4 fue identificado por primera vez en el hemisferio occidental, con los primeros casos en las Antillas Francesas. En la actualidad el virus se propaga en tierras continentales de América Central y Sudamérica.

El dengue endémico del Caribe y México es una amenaza constante a EUA, donde prevalecen mosquitos *A. aegypti* en los meses del verano. Concurrente con el incremento de la actividad epidémica del dengue en los trópicos, se incrementó el número de casos en EUA.

En 1985 se descubrió en Texas el *A. albopictus*, mosquito de origen asiático; para 1989 se había propagado a través del sureste de EUA, donde prevalece el *A. aegypti*, principal vector del virus dengue. Sin embargo, el *A. aegypti* no puede sobrevivir al invierno en los estados del norte; esto contrasta con el *A. albopictus* que puede sobrevivir el invierno hasta más allá del meridiano 42°N, con lo cual aumenta el riesgo de una epidemia de dengue en EUA.

Control

El control depende de las medidas contra el mosquito, por ejemplo, eliminación de los criaderos y empleo de insecticidas. El desarrollo de la vacuna es difícil porque una vacuna debe proveer protección contra los cuatro serotipos de virus; de lo contrario, los receptores podrían tener mayor riesgo de fiebre por dengue hemorrágico.

ENCEFALITIS POR BUNYAVIRUS

La familia Bunyaviridae contiene más de 300 virus, en su mayoría transmitidos por artrópodos. Las partículas esféricas que miden de 80 a 120 nm contienen un genoma de RNA monocatenario de sentido negativo o ambisentido, con segmentación triple y un tamaño total de 11 a 21 kb. La envoltura tiene dos glucoproteínas. Varios virus miembros producen encefalitis en humanos y animales transmitidas por mosquitos; otros causan fiebres hemorrágicas. La transmisión transovárica se presenta en algunos mosquitos. Algunos mosquitos simúlidos transmiten la encefalitis. Un virus transmitido por roedores causa una enfermedad reconocida en fechas recientes, el síndrome pulmonar por hantavirus. Los bunyavirus son sensibles a la desactivación por calor, detergentes, formaldehído y pH bajo; algunos son hemaglutinantes (figura 38-1).

El complejo del virus de encefalitis de California comprende 14 virus relacionados por medio de un gen en el género *Bunyavirus* de la familia. Ésta incluye al virus La

Crosse, un patógeno humano importante en EUA (cuadro 38-2). El virus La Crosse es una causa principal de encefalitis y meningitis aséptica en niños, en particular en la parte superior de la región central de EUA. La mayoría de los casos se presenta entre julio y septiembre en niños menores de 16 años. Se estima que la incidencia de la encefalitis La Crosse en áreas endémicas es 5 a 10 por cada 100 000 pobladores. Las convulsiones son comunes, y la tasa de casos fatales es de casi 1%. Hay muchas infecciones por cada caso de encefalitis (quizá hasta 1 000:1).

Varios mosquitos del bosque transmiten los virus en primer lugar *Aedes triseriatus*. Los principales huéspedes vertebrados son pequeños mamíferos como ardillas, ardillas listadas y conejos. La infección humana es tangencial. La hibernación puede ocurrir en huevos del mosquito transmisor. El virus se transmite de forma transovárica, y los mosquitos adultos que se desarrollan de huevos infectados pueden transmitir el virus por picadura.

El inicio de la infección viral de encefalitis de California es abrupto, por lo común con cefalea bifrontal grave, fiebre de 38 a 40 °C y en algunos casos vómito, letargo y convulsiones. Cerca de la mitad de los pacientes presenta convulsiones. Con menos frecuencia, sólo hay meningitis aséptica. La enfermedad dura de 10 a 14 días, aunque la convalecencia podría ser prolongada. Las secuelas neurológicas son raras. La información serológica mediante las pruebas de IH, ELISA o NI se lleva a cabo en muestras de la etapa aguda y de convalecencia.

FIEBRE POR JEJENES

La fiebre por jejenes es una enfermedad leve transmitida por un insecto, la cual se presenta comúnmente en los países a orillas del mar Mediterráneo y en Rusia, Irán, Pakistán, India, Panamá, Brasil y Trinidad. La mosca *Phlebotomus papatasi* se encuentra en áreas endémicas entre los 20 y 45 grados de latitud. La fiebre debida a esta mosca (también denominada fiebre *phlebotomus*), es producida por un bunyavirus del género *Phlebovirus* (cuadro 38-1).

La mosca flebotomo hembra transmite la enfermedad, un jején de sólo unos pocos milímetros de tamaño. En los trópicos esta mosca es prevalente todo el año; en climas más fríos, sólo durante las épocas calurosas. Puede presentarse transmisión transovárica. El insecto se alimenta sobre todo en la noche.

En las áreas endémicas la infección es común en la infancia. Cuando los adultos no inmunes (p. ej., tropas) llegan a estas regiones pueden presentarse grandes brotes entre los recién llegados y ocasionalmente se confunde con paludismo.

En los humanos la picadura del transmisor produce una pequeña pápula pruriginosa sobre la piel que persiste hasta cinco días. La enfermedad comienza súbitamente después de un periodo de incubación de 3 a 6 días. En breve, cerca del inicio de los síntomas se puede encontrar el virus en la sangre. Las características clínicas consisten en cefalea, malestar, náuseas, fiebre, fotofobia, rigidez del cuello y la espalda, dolor abdominal y leucopenia. Todos los pacientes se recuperan. No hay tratamiento específico.

Los jejenes son más comunes justo arriba del piso. Dado su pequeño tamaño pueden pasar a través de los mosquiteros y redes contra los mosquitos ordinarios. En las áreas endémicas la prevención se basa en el empleo de repelentes para insectos durante la noche e insecticidas residuales dentro y alrededor de las habitaciones.

FIEBRE DEL VALLE DEL RIFT

El agente de esta enfermedad es un bunyavirus del subgrupo flebovirus, es patógeno principalmente para ovejas ganado vacuno y cabras. Los humanos se infectan de manera secundaria en el curso de las epizootias en animales domésticos. Es común la infección en los trabajadores de laboratorios.

La enfermedad en los humanos por lo regular es un padecimiento febril leve de corta duración, y la recuperación casi siempre es completa. Las complicaciones son retinitis (15% de los casos), encefalitis (1%) y fiebre hemorrágica (1%). Podría presentarse pérdida permanente de visión.

La fiebre del valle del Rift se propagó en 1977 a Egipto, donde causó enormes pérdidas de ovejas y ganado vacuno y miles de casos humanos, con 600 muertes. Un gran brote similar ocurrió en África oriental en 1997 y 1998. La primera diseminación documentada del virus de la fiebre del valle del Rift fuera de África tuvo lugar en 2000 en Yemen y Arabia Saudita.

La enfermedad epizootica se presenta de forma periódica después de las lluvias intensas que permiten incubaciones del vector primario y el reservorio (mosquitos de la especie *Aedes*). La viremia en animales origina la infección de otros vectores con transmisión colateral a humanos. La principal forma de transmisión es por contacto con líquidos corporales del animal infectado y picaduras de mosquito.

FIEBRE DE LA GARRAPA DE COLORADO

Algunos arbovirus son miembros de la familia Reoviridae (véase capítulo 37). Los virus de la enfermedad de los caballos africanos y la lengua azul son del género *Orbivirus*. La fiebre de la garrapa de Colorado se clasifica en el género *Coltivirus*. Los rotavirus y los reovirus no tienen vectores artrópodos.

Una garrapa transmite la fiebre de la garrapa de Colorado, denominada también fiebre de las montañas o fiebre de la garrapa (cuadro 38-1). El virus parece ser distinto de otros virus conocidos antigénicamente, y sólo se reconoce un tipo antigénico.

La fiebre de la garrapa de Colorado es una enfermedad febril leve, sin exantema. El periodo de incubación es de 4 a 6 días. La enfermedad tiene un inicio repentino con fiebre y mialgia. Los síntomas son cefalea, dolores musculares y de articulaciones, letargo, náuseas y vómito. La temperatura por lo común es difásica. Después del primer ataque de dos días, el paciente podría sentirse bien, pero los síntomas reaparecen y duran de 3 a 4 días más. La enfermedad en los humanos es autolimitada (cuadro 38-2).

El virus se puede aislar de la sangre completa mediante inoculación de cultivos de células o ratones lactantes. La viremia puede persistir durante cuatro semanas. Mediante pruebas de PCR para transcriptasa reversa se detecta RNA viral en glóbulos rojos y plasma. Los anticuerpos neutralizantes específicos aparecen en la segunda semana de la enfermedad que se detectan mediante pruebas de reducción de placa. Otras pruebas serológicas son ELISA y las pruebas de anticuerpos fluorescentes. Se cree que una sola infección produce inmunidad permanente.

Hay varios cientos de casos de fiebre de la garrapata de Colorado reportados al año, pero se cree que sólo es una fracción de casos totales. La enfermedad está limitada a áreas donde se distribuye la garrapata del bosque *Dermacentor andersoni*, principalmente en zonas altas de la parte oriental de EUA y el sudeste de Canadá. Los pacientes han estado en un área infestada de garrapatas antes del inicio de los síntomas y, en muchos casos, las garrapatas se encuentran adheridas al paciente. Los casos se presentan sobre todo en varones, el grupo con mayor exposición a las garrapatas. La especie *D. andersoni* colectada en la naturaleza puede llevar el virus. La garrapata es un reservorio verdadero, y la hembra adulta transmite el virus de forma transovárica. La infección natural se presenta en roedores, que actúan como huéspedes para etapas inmaduras de la garrapata.

No hay tratamiento específico. La enfermedad se evita si no se acude a áreas infestadas de garrapatas y con el uso de ropa protectora o sustancias químicas repelentes.

FIEBRES HEMORRÁGICAS TRANSMITIDAS POR ROEDORES

Las fiebres hemorrágicas zoonóticas transmitidas por roedores incluyen las fiebres coreana (Hantavirus), de Sudamérica (virus de Junin y de Machupo) y de Lassa. Los hantavirus también causan un síndrome pulmonar en América. Se ignoran los reservorios naturales de los virus Marburg y Ebola (fiebre hemorrágica africana), pero se sospecha que los albergan roedores o murciélagos. Los agentes causantes se clasifican como bunyavirus, arenavirus y filovirus (cuadro 38-1).

ENFERMEDADES POR BUNYAVIRUS

Los hantavirus se clasifican en el género *Hantavirus* de la familia Bunyviridae. Los hantavirus están distribuidos en todo el mundo y causan dos enfermedades graves, y a menudo fatales, en humanos: la fiebre hemorrágica con síndrome renal (FRS) y el síndrome pulmonar por hantavirus (SPH). Se estima que existen de 100 000 a 200 000 casos de infección por hantavirus anualmente en todo el mundo. Existen diversos hantavirus, cada uno relacionado con un huésped roedor específico. Las infecciones del virus en roe-

dores duran toda la vida sin causar efectos deletéreos al huésped. La transmisión a humanos se presenta por medio de la inhalación de aire contaminado con productos de desecho y secreciones de roedores (orina, heces, saliva).

Fiebre hemorrágica con síndrome renal (hantavirus)

La fiebre hemorrágica con síndrome renal (FRS) es una infección viral aguda que produce nefritis intersticial, la cual puede conducir a insuficiencia renal aguda y a insuficiencia renal en las variantes graves de la enfermedad observadas en Asia, particularmente en Corea. Puede presentarse hemorragia generalizada y estado de choque, con una tasa de mortalidad de 5 a 35%. En las variantes clínicas más leves —como la nefropatía epidémica prevalente en Escandinavia— la nefritis intersticial generalmente se resuelve sin complicaciones hemorrágicas y las muertes son raras (< 1%).

Durante la guerra de Corea se presentaron más de 2 000 casos de fiebre hemorrágica con síndrome renal entre las tropas de las Naciones Unidas, pero el hantavirus se aisló hasta 1976, en Corea, de un roedor: *Apodemus agrarius*.

Se sabe que las ratas urbanas mantienen una infección persistente con el hantavirus, y se sugiere que estas ratas en los buques mercantes pueden haber dispersado dicho virus a través del mundo. Las encuestas serológicas indican que las ratas de EUA también fueron infectadas con virus vinculados con el hantavirus. Se demostró que las ratas de laboratorio infectadas son fuente de brotes de hantavirus en los institutos científicos de Europa y Asia, aunque tales infecciones no se han detectado en ratas de laboratorio criadas en EUA. Las infecciones relacionadas con hantavirus se han presentado en personas cuya ocupación las obliga a estar en contacto continuo con ratas (p. ej., estibadores).

Síndrome pulmonar por hantavirus

En 1993 se presentó un brote de enfermedad respiratoria grave en EUA, designado ahora como síndrome pulmonar por hantavirus (SPH), se observó que la causa era un hantavirus nuevo (virus Sin Nombre). Este agente es el primer hantavirus identificado como causa de enfermedad en Norteamérica y el primer causante del síndrome de insuficiencia respiratoria primariamente en adulto. Desde entonces, se han identificado numerosos hantavirus en roedores en América del Norte y América del Sur (cuadro 38-2).

Las infecciones subclínicas al parecer son inusuales, en particular con el virus Sin Nombre. El SPH por lo general es grave, con tasas de mortalidad de 30% o más. Esta tasa de casos fatales es mucho mayor que la de otras infecciones por hantavirus. La enfermedad se caracteriza por fiebre prodromática, mialgia y otros síntomas, como tos, cefalea, náuseas y vómito, seguidos de edema pulmonar progresivo rápido. No hay signos de hemorragia. Se desconoce la patogénesis de los datos pulmonares pero podría reflejar una permeabilidad mayor de los capilares pulmonares. Se dispersaron antígenos hantavirales en pacientes, y se detectaron en el endotelio de pulmón, corazón, riñón, páncreas y tejido del músculo esquelético. Pocas veces se presenta la

transmisión de hantavirus de una persona a otra, aunque al parecer en 1996 en un brote ocurrido en Argentina el virus había pasado de persona a persona.

El diagnóstico de laboratorio depende de la detección del ácido nucleico viral a través de PCR-transcripción reversa o detección de anticuerpos específicos utilizando proteínas recombinantes de diversos hantavirus. Los hantavirus se pueden aislar en cultivos celulares, pero estos métodos requieren dispositivos de contención. La terapéutica actual para el síndrome pulmonar por hantavirus consiste en el mantenimiento de la oxigenación adecuada y el apoyo de la hemodinámica funcional. El antiviral ribavirina produce algún beneficio como terapia en SPH. Las medidas preventivas se basan en el control de los roedores y en evitar el contacto con éstos y con sus deyecciones.

ENFERMEDADES POR ARENAVIRUS

Los arenavirus se tipifican mediante partículas pleomorfas que contienen un genoma de RNA segmentado: están rodeados por una envoltura con peplómeros grandes en forma de trébol y miden de 50 a 300 nm de diámetro (promedio: 110 a 130 nm; figura 38-1). El genoma del arenavirus

consiste en dos moléculas de RNA de una sola cadena con organización genética inusual ambisentido.

En la figura 38-8 se ilustra un ciclo de duplicación generalizado. Los ribosomas huéspedes son cubiertos durante la morfogénesis de las partículas del virus. Los arenavirus por lo común no causan efectos citopáticos al duplicarse en células cultivadas.

Los arenavirus establecen infecciones crónicas en roedores. Por lo general cada virus se relaciona con una sola especie de roedor. La distribución geográfica de un arenavirus específico se determina en parte por el alcance de su huésped roedor. Los humanos se infectan cuando entran en contacto con heces de roedor. Algunos virus causan fiebre hemorrágica grave. Se sabe que varios adenavirus infectan al feto y pueden causar muerte fetal en los humanos.

Al menos siete arenavirus causan enfermedad humana: Lassa, Junin, Machupo, Guanarito, Sabia, Arroyo Whitewater y virus de la coriomeningitis linfocítica (CML) (cuadro 38-1). Debido a que estos arenavirus son infecciosos por aerosoles, se debe tener mucho cuidado al procesar muestras de roedores y humanos. En el laboratorio se requieren condiciones de contención de alto nivel. La transmisión de arenavirus en los huéspedes roedores naturales se presenta por rutas de transmisión vertical, horizontal y sexual. La leche, la saliva y la orina podrían estar involucra-

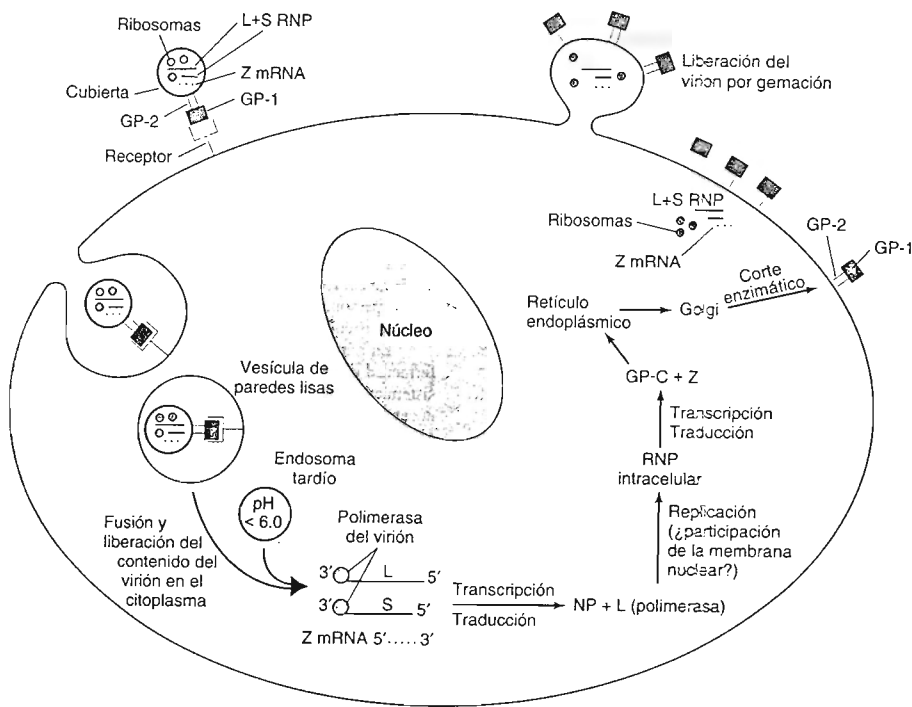


Figura 38-8. Ciclo de vida de los arenavirus (cortesía de PJ Southern).

flamatoria mediada por células en el cerebro. Unas cuantas células T CD8. 100 a 1 000, específicas de la CML introducidas en el sistema nervioso infectado inducen la encefalitis inmunomediada. Los ratones infectados congénitamente o en el periodo neonatal no padecen enfermedad aguda, pero son portadores de una infección que persiste durante toda su vida. No pueden eliminar la infección, puesto que se infectaron antes de la maduración del sistema inmunitario celular y logran una respuesta fuerte con anticuerpos que origina complejos virales circulantes antígeno-anticuerpo y enfermedad compleja inmune. Los animales exhiben glomerulonefritis crónica. Por supuesto que la infección por virus de CML no es citopática en los tejidos, pero podría dar como resultado cierta pérdida de función celular especializada en el sistema neuroendocrino.

ENFERMEDADES POR FILOVIRUS

Clasificación y propiedades de los filovirus

Los filovirus son partículas pleomórficas con apariencia de hebras filamentosas largas o como formas irregulares de 80

nm de diámetro (figura 38-1). Las partículas de longitud unitaria son de 790 nm (Marburg) a 970 nm (Ebola). Los dos filovirus conocidos (virus Marburg y virus Ebola) son antígenicamente distintos y se clasifican en géneros separados (cuadro 38-1). Los cuatro subtipos de virus Ebola (Zaire, Sudán, Reston, Costa de Marfil) comparten algunos epítipos comunes.

El genoma grande es una sola cadena de RNA, no segmentada, de sentido negativo y contiene siete genes (figura 38-9). Una estrategia de codificación poco habitual del virus de Ebola es que la cubierta de glucoproteína (GP) se codifica en dos marcos de lectura y requiere la corrección de la transcripción o el cambio del marco de traducción para expresarse. La glucoproteína forma los picos de la superficie viral en la forma de trímeros de 10 nm de longitud. Los viriones se liberan por medio de gemación desde la membrana plasmática.

Los filovirus son sumamente virulentos y requieren instalaciones con máxima seguridad (bioseguridad nivel 4) para ser trabajados en el laboratorio. La infectividad de los filovirus puede suprimirse por calentamiento durante 30 min a 60 °C, por radiaciones ultravioleta y gamma, con solventes de lípidos y con desinfectantes a base de cloro y fenólicos. Se desconocen los vectores y huéspedes naturales, si es que existen.

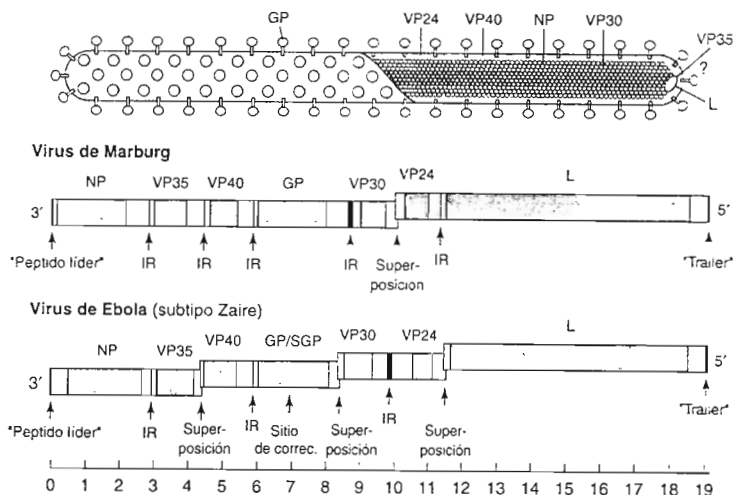


Figura 38-9. Estructura del virión y organización del genoma de los filovirus. Se muestra la organización del genoma de los virus de Marburg y del subtipo Zaire del virus del Ebola. El diagrama del virión muestra la cadena única de sentido negativo de RNA incluida en la nucleocápside y envuelta en una membrana bicapa de lípidos. Las proteínas estructurales vinculadas con la nucleocápside son las nucleoproteínas (NP), VP30, VP35 y la proteína polimerasa (L). Las proteínas relacionadas con la membrana son las proteínas de la matriz (VP40), VP24, y la GP (glucoproteína del peplómero). Los genes que codifican las proteínas estructurales están señalados y dibujados a escala en las estructuras del genoma. Las áreas sombreadas denotan las regiones codificantes y las áreas claras las secuencias no codificantes. Los genes comienzan con un sitio de inicio de la transcripción conservado y finalizan con un sitio para detener la transcripción (poliadenilación); los genes adyacentes pueden estar separados entre sí por una región intergénica (IR) o traslaparse entre sí. El sitio sobre el cual se añade el A adicional dentro del gen GP, durante la corrección transcripcional, se indica en el diagrama del Ebola. El producto gen primario del gen GP del virus Ebola es el SGP, una glucoproteína secretada no estructural. En los extremos 3' y 5' del genoma se encuentran las secuencias complementarias "peptido líder" y "trailer", respectivamente. (Adaptado de Peters CJ et al.: Filoviridae: Marburg and Ebola viruses. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

Fiebres hemorrágicas africanas (virus de Marburg y de Ebola)

Los virus de Marburg y de Ebola son muy virulentos, su infección por lo general termina en muerte. Provocan enfermedades agudas caracterizadas por fiebre, cefalea, dolor faríngeo y dolor muscular, seguidos por dolor abdominal, vómito, diarrea, y exantema, así como sangrado interno y externo que con frecuencia conduce a estado de choque y muerte.

Los filovirus tienen un tropismo para las células del sistema de macrófagos, hepatocitos y células endoteliales. Se encuentran títulos muy grandes del virus en muchos tejidos, incluyendo hígado, bazo, pulmones y riñones, así como sangre y otros fluidos. Estos virus producen una tasa de mortalidad más grande (30 a 90%) de todas las fiebres hemorrágicas virales.

La enfermedad por el virus de Marburg se identificó en 1967 en los trabajadores de un laboratorio expuestos a los tejidos del mono verde africano (*Cercopithecus aethiops*) importado a Alemania y Yugoslavia. Hubo transmisión de los pacientes al personal médico, con grandes tasas de mortalidad. La detección de los anticuerpos indica que el virus se encuentra en África Oriental y es causa de infección en monos y humanos. Se han comprobado algunas muertes debidas al virus de Marburg en Kenia y Sudáfrica. El virus de Marburg puede infectar a cobayos, ratones, hamsters, monos y varios sistemas de cultivo de células. Los monos inoculados experimentalmente desarrollaron una enfermedad siempre mortal, parecida a la fiebre hemorrágica en humanos, después de un periodo de incubación de 4 a 16 días.

En 1976, se presentaron dos epidemias graves de fiebre hemorrágica en Sudán y Zaire. El virus causante se denominó virus de Ebola, a partir del nombre de un río en Zaire. Los brotes implicaron más de 500 casos y al menos 400 muertes debidas a la fiebre hemorrágica clínica. En cada brote, el personal del hospital se infectó a través del contacto estrecho y prolongado con pacientes, su sangre o sus excretas. Estos subtipos de virus Ebola (Zaire y Sudán) son muy virulentos y tienen un periodo de incubación de 2 a 21 días. El tiempo promedio hasta la muerte desde el inicio de los síntomas es de 7 a 8 días. Otra epidemia ocurrió en Kikwit, Zaire, en 1995. Hubo por lo menos 315 casos identificados con mortalidad de 80%. El agente causante fue el subtipo Zaire del virus Ebola. La epidemia se detuvo mediante la instalación de barreras de protección por enfermería y la capacitación del personal del hospital.

Los brotes de fiebre hemorrágica por Ebola se presentaron en Uganda en el año 2000 y en la República del Congo en 2003. El subtipo Sudán causó la epidemia de Uganda; hubo 425 casos con 53% de muertes. El brote en 2003 se reconoció en un gran número de gorilas y chimpancés muertos. El virus causante fue el subtipo Zaire; de 143 casos en humanos, 89% resultaron fatales.

A finales de 1989, se detectaron infecciones debidas a un filovirus estrechamente relacionado con el virus de Ebola en monos cinomolgos (*Macaca fascicularis*) importados a EUA desde Filipinas y mantenidos en cuarentena en Virginia. La infección sólo se propagó en unas pocas de las 149 personas que entraron en contacto con los monos in-

fectados o sus tejidos, pero ninguno de los trabajadores presentó la enfermedad, lo cual indica que el virus (subtipo Reston) no es tan virulento como el subtipo Zaire.

Al parecer las infecciones por filovirus son inmunosupresivas. Los casos fatales muestran respuestas inmunes humorales deficientes. Sin embargo, cuando el paciente se recupera aparecen anticuerpos de filovirus que son detectables con ELISA. Los antígenos virales en suero se detectan mediante ELISA, así que se obtiene una prueba rápida de selección de muestras humanas. Un peligro en la realización de pruebas serológicas para los filovirus es que el suero del paciente podría contener virus virulento. Los aislados de virus fresco se cultivan en líneas celulares como las líneas celulares Vero y MA-104 de mono. La PCR para transcriptasa reversa también se puede usar en muestras clínicas. Al parecer, los dos aspectos de la enfermedad se deben a las dos versiones de la glucoproteína del Ebola. La glucoproteína secretada paraliza la respuesta inflamatoria, y la glucoproteína enlazada al virión media la entrada viral a las células endoteliales, lo que origina daño viral de los vasos sanguíneos.

El tratamiento se dirige a mantener la función renal, el equilibrio electrolítico y a combatir la hemorragia y el estado de choque. No existe vacuna, pero están en desarrollo las vacunas posibles.

Es probable que los virus de Marburg y de Ebola tengan un huésped reservorio, tal vez un roedor o un murciélago, y sólo se transmitan a los humanos de manera accidental. Las infecciones humanas son muy diseminables por contacto humano, como lo demuestran las epidemias en África. En general, los brotes de infección por virus Ebola se relacionan con la introducción del virus en la comunidad por una persona infectada, seguida de la diseminación por contagio de persona a persona, a menudo dentro de las instalaciones médicas. Normalmente, la transmisión entre humanos requiere contacto directo con sangre o líquidos corporales, aunque se presentan infecciones transmitidas por gotitas.

Puesto que aún se desconocen los reservorios naturales de los virus de Marburg y de Ebola, no pueden organizarse actividades de control. La propagación en hospitales ha sido una característica notable de ambas enfermedades y, por tanto, el manejo de los pacientes requiere una atención especial. El uso de instalaciones de aislamiento es el medio más eficaz para controlar los brotes de Ebola. Se debe tener extremo cuidado con sangre, secreciones, tejidos y desechos infectados. Es necesario instruir al personal que participa en el transporte y cuidado de los primates no humanos acerca de los posibles peligros de manejar esta clase de animales.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Un varón de 74 años de edad manifiesta fiebre, malestar general y ardor de garganta, seguidos poco después por náuseas, vómito y estupor. Se le diagnostica encefalitis equina oriental. El control de esta enfermedad en humanos se podría llevar a cabo mediante la erradicación de:
 - A. Caballos

- B. Aves
C. Moscas
D. Mosquitos
E. Garrapatas
2. Un arbovirus común en el Medio Oeste, África y el suroeste de Asia apareció por primera vez en Nueva York. En 2002, el virus se había difundido por todo EUA. El arbovirus, que es un miembro del complejo antigénico de la encefalitis japonesa B, es:
A. Virus de la encefalitis japonesa B
B. Virus de la encefalitis transmitida por garrapatas
C. Virus del oeste del Nilo
D. Virus del dengue
E. Virus de la fiebre del valle del Rift
3. ¿Cuál de las siguientes descripciones de la fiebre de Lassa o enunciados acerca de ésta es correcto?:
A. Se encuentra en África oriental
B. No se presenta la transmisión de humano a humano
C. Pocas veces causa muerte o complicaciones
D. Se presenta a partir del contacto con la rata doméstica *Mastomys*
E. No hay fármaco que sea eficaz para tratar la fiebre de Lassa
4. Los arbovirus son transmitidos por la succión de sangre de artrópodos de un huésped vertebrado a otro. Los arbovirus se encuentran en las siguientes familias de virus, excepto:
A. Togaviridae
B. Flaviviridae
C. Bunyaviridae
D. Reoviridae
E. Arenaviridae
5. Un varón de 27 años de edad presenta fiebre, escalofríos, cefalea y dolor de espalda. Cuatro días después manifiesta fiebre e ictericia. Se le diagnostica fiebre amarilla. ¿Cuál de los siguientes enunciados en relación con la fiebre amarilla es correcto?:
A. Los mosquitos culicinos transmiten el virus en la forma urbana de la enfermedad
B. Los monos de la selva son un reservorio principal del virus de la fiebre amarilla
C. La fiebre amarilla suele tener complicaciones de largo plazo
D. Las infecciones originan enfermedad evidente
E. La ribavirina es la terapia específica
6. En relación con el caso de la pregunta 5, ¿en qué región o regiones se presenta la fiebre amarilla?:
A. Asia
B. África y Sudamérica
C. Norteamérica
D. África y Medio Oeste
E. En todo el mundo
7. Las fiebres hemorrágicas africanas, Marburg y Ebola, son enfermedades graves que suelen terminar en muerte. El virus Ebola:
A. Se disemina por contacto con sangre u otros fluidos corporales
B. Es transmitido por mosquitos
C. Es un flavivirus
D. Causa infecciones pero no enfermedad en primates no humanos
E. Está relacionado antigénicamente con el virus de la fiebre de Lassa
8. ¿Cuál de los siguientes grupos puede ser inmunizado rutinariamente con la vacuna de la fiebre amarilla sin consideraciones de seguridad especiales?:
A. Niños menores de nueve meses de edad
B. Mujeres embarazadas
C. Personas con sistemas inmunes comprometidos
D. Todos los anteriores
E. Ninguno de los anteriores
9. ¿Con cuál de los siguientes enunciados se puede describir a los hantavirus, los cuales son patógenos que surgen en EUA?:
A. Son arenaviruses
B. Se transmiten fácilmente de humano a humano
C. Causan síntomas parecidos a la influenza, seguidos de insuficiencia respiratoria aguda rápida
D. Se adquieren por inhalación de aerosoles de orina de venado
E. Muestran una alta frecuencia de variación antigénica
10. Un microbiólogo lleva a cabo una necropsia en un gabinete de seguridad con flujo laminar en un azulejo suministrado como parte de un programa de vigilancia de un arbovirus del estado. Se pincha el dedo mientras utiliza un bisturí para quitar el cerebro del pájaro. Cuatro días después presenta cefalea, mialgia y malestar general, seguidos de escalofríos, diaforesis e inflamación del ganglio linfático. Dos días después, comienza un exantema en la cara y se pasa a tronco, brazos y piernas, con duración de casi tres días. Él busca atención médica y describe una historia de fiebre del dengue y vacunaciones con las vacunas de la fiebre amarilla y encefalitis japonesa B. Una muestra de suero tomada el día de la lesión contenía anticuerpo IgG anti-flavivirus detectado mediante la prueba ELISA. Una muestra de suero recolectada 13 días después del inicio de la enfermedad mostró un título mayor del anticuerpo IgM del oeste del Nilo. El médico podría concluir que la causa más probable de la enfermedad del microbiólogo fue:
A. Virus del dengue
B. Virus de la fiebre amarilla
C. Virus del oeste del Nilo
D. Encefalitis de San Luis
E. No es posible la identificación hasta poder evaluar títulos de anticuerpo neutralizante de sueros pareados contra un panel de arbovirus

Respuestas; 1 = D; 2 = C; 3 = D; 4 = E; 5 = B; 6 = B; 7 = A; 8 = E; 9 = C; 10 = C.

REFERENCIAS

- Brinton MA: The molecular biology of West Nile Virus: A new invader of the western hemisphere. *Annu Rev Microbiol* 2002;56:371.
- Burke DS, Monath TP: Flaviviruses. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM et al. (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

- Cetron MS et al.: Yellow fever vaccine. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2002. *MMWR Recomm Rep* 2002;51 (RR-17):1.
- Griffin DE: Alphaviruses. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM et al. (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Gubler DJ, Trent DW: Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. *Infect Agents Dis* 1994;2:383.

Inactivated Japanese encephalitis virus vaccine. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMMR Morb Mortal Wkly Rep* 1993;42(RR-1):1.

Mills JN *et al.*: Hantavirus pulmonary syndrome—United States. Updated recommendations for risk reduction. Centers for

Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 2002;51 (RR-9):1.

Peters CJ, LeDuc JW (guest editors): Ebola: the virus and the disease. *J Infect Dis* 1999;179(Suppl 1). [Entire issue.]

Süss J: Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. *Vaccine* 2003;21:S1/19.

A las
de tod
Ortho
determ
la infe
infecci
sa de r
último
denam
los car
de la s
fuerzo
tipo A
mayor
fluenza
es caus
mente
causa d

PRO ORT

Se con
Dentro
menor
gar can
antígen
influen
Alguna
desde e
la pobla
La
fluenza

Distin

A pesa
los par
tos deb
y a sus

Ortomixovirus (virus de la influenza)

A las enfermedades respiratorias se deben más de la mitad de todas las enfermedades agudas cada año en EUA. Los *Orthomyxoviridae* (virus de la influenza) son el principal determinante de la morbilidad y la mortalidad causadas por la enfermedad respiratoria, y a veces se presentan brotes de infección en forma de pandemias. La influenza ha sido causa de millones de muertes en todo el mundo durante este último siglo. La mutabilidad y la gran frecuencia de reordenamiento genético característico de los ortomixovirus, con los cambios antigénicos resultantes en las glucoproteínas de la superficie viral, son un desafío formidable a los esfuerzos por controlar los virus de la influenza. La influenza tipo A es antigénicamente muy variable y es la causa de la mayor parte de los casos de epidemias de influenza. La influenza tipo B puede mostrar cambios antigénicos y a veces es causa de epidemias. La influenza tipo C es antigénicamente estable y en individuos inmunocompetentes sólo es causa de enfermedad leve.

PROPIEDADES DE LOS ORTOMIXOVIRUS

Se conocen tres tipos inmunológicos, designados A, B y C. Dentro del grupo de los virus de la influenza tipo A, y en menor grado en el grupo tipo B, continuamente tienen lugar cambios antigénicos, en tanto que el tipo C parece ser antigénicamente estable. También se conocen cepas de la influenza A para aves acuáticas, cerdos, equinos y focas. Algunas de las cepas aisladas de animales son similares desde el punto de vista antigénico a las cepas circulantes en la población humana.

Las siguientes descripciones se basan en virus de la influenza tipo A, que es el mejor caracterizado (cuadro 39-1).

Distinción de los paramixovirus

A pesar de tener ciertas similitudes, los ortomixovirus y los paramixovirus están separados en dos grupos distintos debido a diferencias fundamentales en sus estructuras y a sus patrones de replicación (cuadro 39-2). Aquí estu-

diamos los ortomixovirus y en el capítulo 40 los paramixovirus.

Estructura y composición

Las partículas virales de la influenza por lo general son esféricas y de 100 nm de diámetro aproximadamente, aunque los viriones pueden mostrar gran variación de tamaño (figura 39-1).

Los genomas del RNA de cadena sencilla, de sentido negativo de los virus de la influenza A y B poseen ocho segmentos separados; los virus de la influenza C contienen siete segmentos del RNA y carecen de un gen para neuraminidasa. Se conocen el tamaño y las correspondencias codificantes de las proteínas para todos los segmentos (cuadro 39-3). La mayor parte de los segmentos codifica para una sola proteína. Se conoce también la secuencia completa de nucleótidos para muchos virus de la influenza. Los primeros 12 a 13 nucleótidos de cada extremo en cada segmento genómico se conservan entre los ocho segmentos del RNA; estas secuencias son importantes en la transcripción viral.

Cuadro 39-1. Propiedades importantes de los ortomixovirus

Virión: esférico, pleomorfo, 80 a 120 nm de diámetro (nucleocápside helicoidal, 9 nm)
Composición: RNA (1%), proteína (73%), lípido (20%), carbohidrato (6%)
Genoma: RNA de cadena simple, segmentado (ocho moléculas), de sentido negativo, total 13.6 kb
Proteínas: nueve proteínas estructurales, una no estructural
Cubierta: contiene proteínas hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) virales
Replicación: transcripción nuclear; terminal 5' con "capping" de RNA celular como cebador; las partículas maduran por gemación de la membrana plasmática
Características notables:
Es común el reordenamiento genético
El virus de la influenza es causa de epidemias en todo el mundo

Cuadro 39-2. Diferencias entre ortomixovirus y paramixovirus

Propiedad	Ortomixovirus	Paramixovirus
Enfermedad producida en los humanos	Influenza tipos A, B y C	Infecciones de parainfluenza 1 a 4, enfermedad respiratoria sincitial, parotiditis, sarampión
Genoma	RNA de cadena sencilla en ocho fragmentos, sentido negativo	RNA de cadena sencilla en un solo fragmento, sentido negativo
Hélice interna de ribonucleoproteína	9 nm de diámetro	18 nm de diámetro
RNA en la nucleocápside	Sensible a RNasa	Resistente a la RNasa
Fusión del virus con la célula	Endosoma	Membrana plasmática
Transcripción de RNA viral	Núcleo de las células huésped	Citoplasma de la célula huésped
Reordenamiento genético	Frecuente	Poco común
Tasa de cambio antigénico	Alta	Baja

Las partículas del virus de la influenza contienen nueve proteínas estructurales diferentes. La nucleoproteína (NP) se reúne con el RNA viral para formar una estructura de ribonucleoproteína (RNP) de 9 nm de diámetro que asume una configuración helicoidal y forma la nucleocápside viral. Tres grandes proteínas (PB1, PB2 y PA) se unen a la RNP viral y se encargan de la transcripción y replicación del RNA. La proteína de la matriz (M_1), que forma una capa por debajo de la cubierta lipídica del virus, es importante en la morfogénesis de la partícula y es un componente principal del virión (casi 40% de la proteína viral).

La partícula viral está rodeada por una cubierta lipídica derivada de las células. Dos glucoproteínas codificadas por el virus, la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA), se introducen en la cubierta y quedan expuestas como espigas de casi 10 nm de longitud sobre la superficie de la partícula. Estas dos glucoproteínas de superficie son los antígenos importantes que determinan la variación antigénica de los virus de la influenza y la inmunidad del huésped. La HA representa casi 25% de la proteína viral y la NA cerca de 5%. La proteína del canal iónico M_2 y la proteína NS_2 también se encuentran en la cubierta, pero sólo en unas pocas copias por partícula.

Debido a la naturaleza segmentada del genoma, cuando una célula sufre infección concurrente por dos virus diferentes de un determinado tipo, se pueden ensamblar mezclas de los segmentos del gen progenitor en los viriones. Este fenómeno, denominado **reordenamiento genético**, puede producir cambios súbitos en los antígenos de la superficie viral —propiedad que explica las características epidemiológicas de la influenza y plantea problemas significativos para el desarrollo de vacunas.

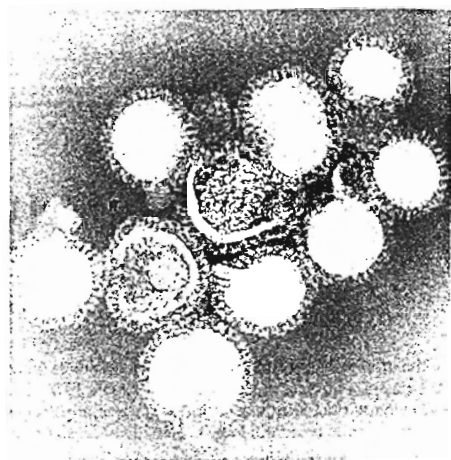


Figura 39-1. Virus de la influenza A/Hong Kong/1/68 (H3N2). Nótese las formas pleomórficas y las prolongaciones de glucoproteína que cubren las superficies de la partícula (315 000 x). (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

Los virus de la influenza son relativamente resistentes *in vitro* y pueden almacenarse entre 0 y 4 °C durante semanas sin pérdida de su viabilidad. Los disolventes lipídicos, los desnaturizantes proteínicos, el formaldehído y la radiación destruyen la infectividad. La hemaglutinación y la infectividad son más resistentes a la inactivación en pH alcalino que bajo un pH ácido.

Clasificación y nomenclatura

El género *Influenzavirus A*. B contiene cepas humanas y animales de influenza tipo A y cepas humanas de tipo B; el *Influenzavirus C* contiene virus de la influenza tipo C de humanos y cerdos.

Las diferencias antigénicas mostradas por dos de las proteínas estructurales internas, la nucleocápside (NP) y las proteínas de la matriz (M), sirven para dividir a los virus de la influenza en los tipos A, B y C. Estas proteínas no muestran reactividad cruzada entre los tres tipos. Las variaciones antigénicas en las glucoproteínas de superficie, HA y NA, se emplean para subtipificar a los virus. Sólo el tipo A tiene subtipos designados.

El sistema estándar de nomenclatura para los virus de la influenza aislados incluyen la siguiente información: tipo, huésped de origen, origen geográfico, número de cepa y año de aislamiento. La descripción antigénica de la HA y de la NA se proporciona entre paréntesis para el tipo A. No se indica el huésped de origen para los aislados humanos; por ejemplo, A/Hong Kong/03/68 (H3N2), pero sí para otros, por ejemplo, A/cerdo/ Iowa/15/30 (H1N1).

Hasta ahora se han recuperado 15 subtipos de HA (H1-H15) y nueve subtipos de NA (N1-N9) en muchas combinaciones diferentes, de aves, animales o humanos. Se han

Cuadro 39-3. Asignación de codificación de los segmentos de RNA del virus de la influenza A¹

Segmento del genoma		Polipéptido codificado			
Número ²	Tamaño (número de nucleótidos)	Designación	Peso molecular pronosticado ³	Número aproximado de moléculas por virión	Función
1	2341	PB2	85 700	30 a 60	Componentes de la RNA transcriptasa
2	2341	PB1	86 500		
3	2233	PA	84 200		
4	1778	HA	61 500	500	Hemaglutinina; trímero; glucoproteína de la cubierta que media la unión del virus a las células; activado por corte; actividad de fusión bajo pH ácido
5	1565	NP	56 100	1 000	Relacionado con las proteínas del RNA y de la polimerasa; estructura helicoidal, nucleocápside
6	1413	NA	50 000	100	Neuraminidasa; tetramero; glucoproteína de la cubierta; enzima
7	1027	M ₁	27 800	3 000	Proteína de la matriz; componente principal del virión; líneas dentro de la cubierta; participa en el ensamblado, interactúa con RNP, y NS ₂ virales
		M ₂	11 000	20 a 60	Proteína integral de la membrana; canal iónico; esencial para desproteger al virus; derivado del mRNA procesado
8	890	NS ₁	26 800	0	No estructural; muy abundante; inhibe la unión de mRNA precursor, reduce la respuesta del interferón
		NS ₂	14 200	130 a 200	Componente menor de los viriones; exportación nuclear de RNP viral; de mRNA unido

¹ Adaptado de Lamb RA, Krug RM: Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al (editors). Li-pincott-Raven, 1996.

² Los segmentos del RNA se enumeran en orden decreciente por tamaño.

³ Los pesos moleculares de las dos glucoproteínas, HA y NA, parecen mayores (casi 76 000 y 56 000, respectivamente) debido al carbohidrato añadido.

recuperado tres subtipos HA (H1-H3) y dos NA (N1, N2) de humanos.

Estructura y función de la hemaglutinina

La proteína HA del virus de la influenza se une a las partículas virales a las células susceptibles y es el antígeno principal contra el cual se dirigen los anticuerpos neutralizantes (protectores). La variabilidad en esta proteína es la principal causa de la evolución continua de nuevas cepas y de las epidemias subsecuentes de influenza. La HA deriva su nombre de su capacidad para aglutinar eritrocitos bajo ciertas condiciones.

La secuencia completa de los aminoácidos de la HA se puede calcular a partir de la secuencia del gen HA, y la estructura tridimensional de la proteína se ha revelado por cristalografía de rayos X; por tanto, es posible correlacionar las funciones de la molécula HA con su estructura.

La secuencia primaria de la HA contiene 566 aminoácidos (figura 39-2A). Una secuencia corta de señal en la

terminal amino introduce el polipéptido en el retículo endoplásmico; a continuación se elimina la señal. La proteína HA se corta en dos subunidades, la HA1 y la HA2, que permanecen firmemente unidas por un puente disulfuro. Un tramo hidrófobo cerca de la terminal carboxilo de la HA2 fija la molécula HA a la membrana mediante una pequeña cola hidrófila que se extiende al interior del citoplasma. En varios sitios se añaden residuos de oligosacárido.

La molécula HA está plegada en una estructura compleja (figura 39-2B). Cada dímero de HA1 y HA2 forma un tallo alargado y una estructura globosa grande en uno de sus extremos, a manera de casquete. La base del tallo fija la molécula a la membrana. Cinco sitios antígenicos sobre la molécula HA tienen mutaciones extensas. Estos sitios aparecen en las regiones expuestas sobre la superficie de la estructura y tal vez no son indispensables para la estabilidad de la molécula, pero participan en la neutralización viral. Otras regiones de la molécula HA se conservan en todos los virus aislados y secuenciados, presuntamente debido a que son necesarias para retener la estructura y la función de la molécula.

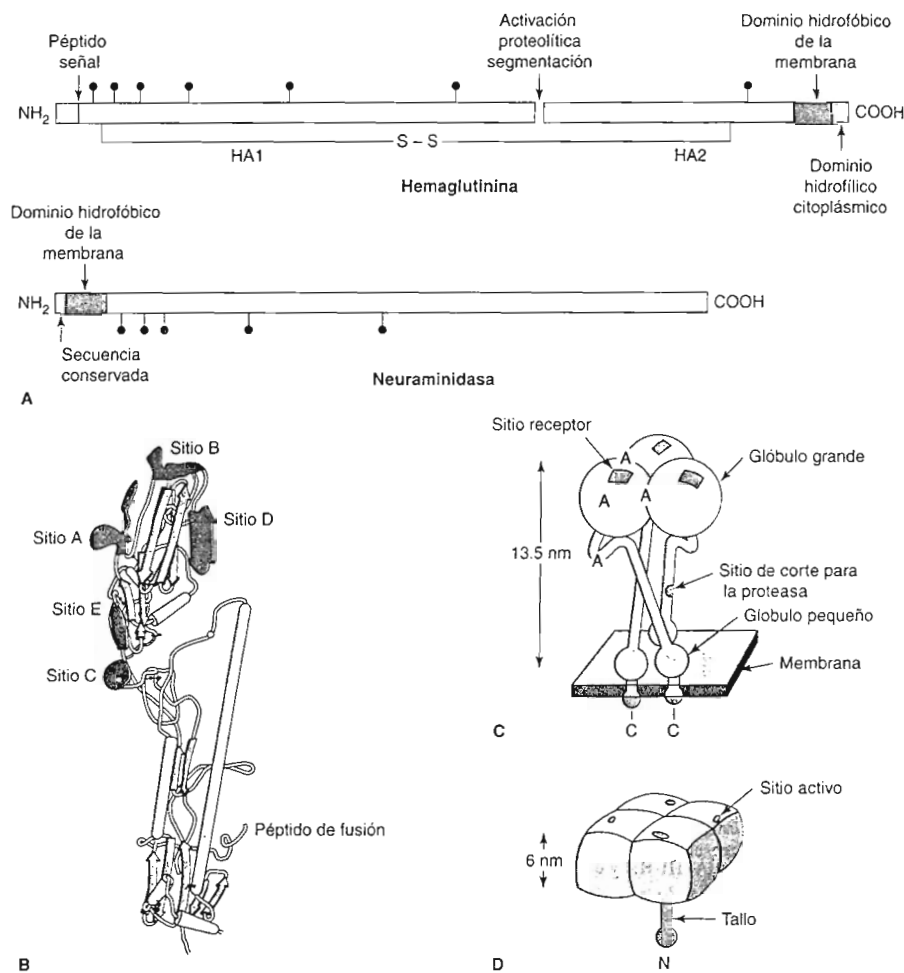


Figura 39-2. Hemaglutinina y neuraminidasa de las glucoproteínas de la superficie del virus de la influenza. **(A)** Estructuras primarias de los polipéptidos HA y NA. La segmentación de la HA en HA1 y HA2 es requisito para que el virus sea infectante. Las HA1 y HA2 permanecen unidas por un puente disulfuro (S-S). Con la NA no acontece desdoblamiento después de la traducción. Se muestran los sitios de adhesión de los carbohidratos (J). Los aminoácidos hidrofóbicos que fijan las proteínas a la membrana viral se localizan cerca del carboxilo terminal de la HA y el amino terminal de la NA. **(B)** Plegamiento de los polipéptidos HA1 y HA2 en un monómero HA. Se muestran como áreas sombreadas cinco sitios antígenicos principales (sitios A-E) que son objeto de cambios. El amino terminal de la HA2 suministra la actividad de fusión (péptido de fusión). La partícula de fusión permanece oculta en la molécula hasta ser expuesta por un cambio conformacional inducido por un pH bajo. **(C)** Estructura del trímero HA según se encuentre sobre una partícula viral o en la superficie de las células infectadas. Se muestran algunos de los sitios implicados en la variación antígenica (A). Los residuos terminales carboxilo (C) sobresalen a través de la membrana. **(D)** Estructura del tetrámero NA. Cada molécula NA tiene un sitio activo sobre su superficie superior. La región amino terminal (N) de los polipéptidos fija el complejo en la membrana. (Redibujado con autorización de [A, B] Murphy BR, Webster RG: Influenza viruses, p 1179, and [C, D] Kingsbury DW: Orthomyxo- and paramyxoviruses and their replication, p 1157. In: *Virology*, Fields BN et al. [editors] Raven Press, 1985.)

© Elsevier & Al. Reservados todos los derechos. No se permite la explotación económica ni la transformación de esta obra.

La espiga HA sobre la partícula viral es un trímero compuesto de tres dímeros HA1 y HA2 trenzados (figura 39-2C). La trimerización imparte mayor estabilidad a la espiga de la que podría lograr con un monómero HA. El sitio receptor para el enlace celular (sitio de adhesión viral) es una bolsa localizada en la parte superior de cada glóbulo grande. La bolsa es inaccesible al anticuerpo.

La lisis que separa a HA1 y HA2 es mediada por proteasas celulares y es necesaria para que la partícula del virus sea infecciosa. Los virus de la influenza normalmente permanecen confinados al tracto respiratorio, debido a que las proteasas que cortan a HA están presentes sólo en esos sitios. Se han identificado ejemplos de virus más virulentos que se han adaptado a enzimas más ubicuas, como las plasminas, para lograr la lisis de HA y así promover una infección celular más extensa. La terminal amino de la HA2, generada en un evento de escisión, es necesaria para que la cubierta del virus se fusione con la membrana celular, una etapa indispensable en el proceso de la infección viral. Un pH bajo desencadena un cambio conformacional que pone en marcha la actividad de fusión.

Estructura y función de la neuraminidasa

La antigenicidad de la neuraminidasa (NA), la otra glucoproteína sobre la superficie de la partícula del virus de la influenza, también es importante para determinar el subtipo de los virus de la influenza aislados.

La espiga sobre la partícula viral es un tetrámero compuesto de cuatro monómeros idénticos (figura 39-2D). Un delgado tallo remata en un extremo con una cabeza en forma de caja. Sobre la parte superior de cada cabeza existe un sitio catalítico para la NA, de modo que cada espiga NA contiene cuatro sitios activos.

La NA funciona al final de la replicación viral. Es una enzima sialidasa que retira el ácido siálico de los glucosjugados. Facilita la liberación de la partícula viral de la superficie de las células infectadas durante el proceso de gemación y ayuda a evitar la autoagregación de los viriones al retirar los residuos de ácido siálico de las glucoproteínas virales. Es posible que la NA ayude al virus a desplazarse a través de la capa de mucina en el aparato respiratorio para alcanzar a las células epiteliales blanco.

Desviación y cambios antigénicos

Los virus de la influenza son notables debido a los frecuentes cambios antigénicos que acontecen en la HA y en la NA. Las variantes antigénicas del virus de la influenza tienen una ventaja selectiva sobre el virus progenitor en presencia de anticuerpos dirigidos contra la cepa original. Este fenómeno origina las características epidemiológicas peculiares de la influenza. Otros agentes que atacan el aparato respiratorio no muestran variación antigénica significativa.

Los dos antígenos de superficie de la influenza son objeto de variación antigénica independiente entre sí. Los cambios antigénicos menores se denominan **desviación antigénica**, en tanto que las alteraciones antigénicas importantes en la HA o NA, llamadas **cambios antigénicos**,

conducen a la aparición de un nuevo subtipo (figura 39-3). El desplazamiento antigénico tiene más probabilidades de producir una epidemia.

La desviación antigénica se debe a la acumulación de mutaciones puntuales en el gen, las cuales producen cambios en aminoácidos de la proteína. Los cambios en la secuencia pueden alterar sitios antigénicos sobre la molécula, de modo que un virión puede no ser reconocido por el sistema inmunitario del huésped. Una variante debe sufrir dos o más mutaciones antes que surja una nueva cepa epidemiológicamente significativa.

El cambio antigénico refleja cambios drásticos en la secuencia de una proteína de la superficie viral, cambios demasiado grandes para ser explicados por mutación. Los genomas segmentados del virus de la influenza se redistribuyen con facilidad en las células doblemente infectadas. El mecanismo para el cambio es la redistribución genética entre los virus de la influenza humanos y los de origen aviar. Los virus de la influenza B y C no muestran cambio antigénico, quizá debido a los pocos virus relacionados con animales.

Replicación del virus de la influenza

El ciclo de replicación del virus de la influenza se resume en la figura 39-4. El virus de la influenza es poco común entre los virus no oncogénicos de RNA, debido a que toda la transcripción y replicación del RNA tienen lugar en el núcleo de las células infectadas. Además, es el único virus del RNA (sin un DNA genómico intermedio) que utiliza

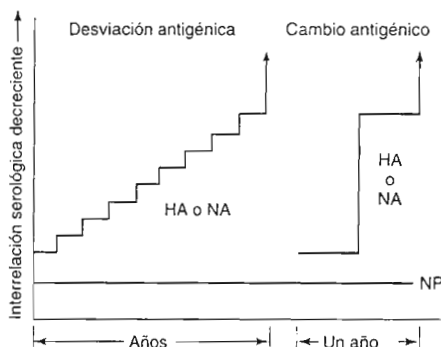


Figura 39-3. Desviación y cambio antigénico que explican las transformaciones en los sitios antigénicos de las dos superficies de las glucoproteínas (HA y NA) del virus de la influenza. La desviación antigénica es un cambio gradual en la antigenicidad debido a mutaciones puntuales que afectan los sitios antigénicos principales sobre la glucoproteína. El cambio antigénico es una modificación brusca debido a reordenamiento genético con una cepa no interrelacionada. Los cambios en la HA y en la NA se presentan de manera independiente. Las proteínas internas del virus, como la nucleoproteína (NP), no sufren dichos cambios antigénicos.

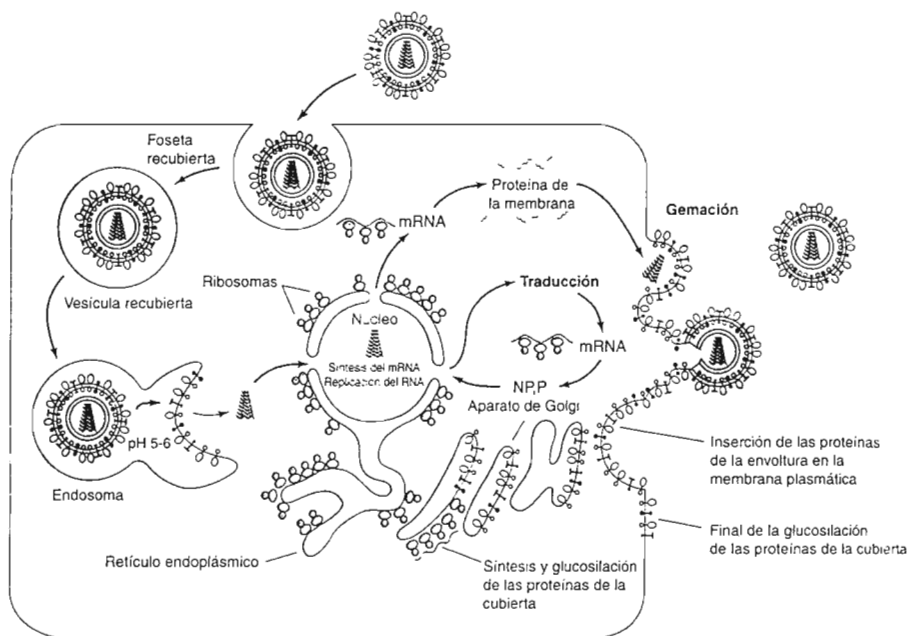


Figura 39-4. Diagrama del ciclo de vida del virus de la influenza. Las fases de la replicación viral son (1) unión de los virus y penetración a la célula; (2) transcripción del RNA viral y traducción de las proteínas virales; (3) replicación del RNA viral; y (4) ensamblado de los viriones nuevos y liberación de la célula. (Reproducido con autorización de Lamb RA, Krug RM Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors] Lippincott-Raven 1996.)

algún mRNA ensamblado. El ciclo de multiplicación viral se lleva a cabo rápidamente. Se observa una interrupción radical de la síntesis de proteínas en la célula huésped aproximadamente 3 h después de la infección (mediante un mecanismo desconocido), permitiendo así la traducción selectiva del mRNA viral. Nuevas progenies de virus se producen a las 8 a 10 h posinfección.

A. Adhesión, penetración y pérdida de la cubierta del virus

El virus se une al ácido siálico de la superficie celular por medio del sitio receptor localizado sobre el extremo globoso grande de la proteína HA. A continuación, las partículas virales penetran a los endosomas mediante un proceso denominado endocitosis mediada por receptor. El siguiente paso implica la fusión entre la cubierta del virus y la membrana celular, que desencadena la pérdida de la cubierta. Se requiere el pH bajo del interior del endosoma para la fusión de la membrana mediada por el virus, el cual libera la RNP viral en el citosol. El pH ácido da lugar a un cambio conformacional en la estructura de la HA para llevar la HA2, el "péptido de fusión", en contacto correcto con la membrana. La proteína del canal iónico M_2 presente en el virión permite el ingreso de los iones desde el endosoma al inte-

rior de la partícula viral para desencadenar el cambio conformacional en la HA. A continuación se liberan los nucleocápsides virales en el citoplasma de la célula.

B. Transcripción y traducción

Los mecanismos de transcripción empleados por los ortomixovirus difieren notablemente de los de otros virus de RNA en que las funciones celulares participan de manera más estrecha. La transcripción viral tiene lugar en el núcleo. Los mRNA se producen a partir de la nucleocápside viral. La polimerasa codificada por el virus y compuesta por un complejo de tres proteínas P es la principal encargada de la transcripción. Su acción debe ser inducida por los extremos rematados y metilados en 5', que son desechados de los transcritos celulares recién sintetizados por la RNA polimerasa II celular. Esto explica por qué se inhibe la replicación del virus de la influenza con dactinomicina y la amanitina, las cuales impiden la transcripción celular, en tanto que otros virus de RNA no se afectan debido a que emplean transcritos celulares en la síntesis del RNA viral.

Seis de los segmentos del genoma producen mRNA monocistónicos que se traducen en el citoplasma en proteínas virales. Los otros dos transcritos se empalman (*splicing*) y cada uno produce dos mRNA traducidos en

diferentes marcos de lectura. En los primeros momentos después de la infección predomina la síntesis de las proteínas NS₁ y NP. Al final, las proteínas estructurales se sintetizan con tasas mayores. Las dos glucoproteínas, la HA y la NA, se modifican a través de la vía secretoria.

La proteína NS₁ no estructural del virus de la influenza desempeña una función postranscripcional en la regulación de la expresión de los genes virales y celulares. La proteína NS₁ se une a secuencias poli(A), inhibe el empalme (*splicing*) del pre-mRNA e inhibe la salida del núcleo de los mRNA empalmados, garantizando una reserva de moléculas donadoras celulares para suministrar los inductores rematados necesarios para la síntesis del mRNA viral. La proteína NS₂ interactúa con la proteína M₁ y participa en la exportación nuclear de ribonucleoproteínas (del inglés, RNP) viral.

C. Replicación del RNA viral

Las mismas proteínas polímeras implicadas en la transcripción y codificadas por el virus efectúan la replicación del genoma viral. La participación de los mecanismos reguladores de la transcripción y la replicación alternas de las mismas proteínas se interrelaciona con la abundancia de una o más de las proteínas virales de la nucleocápside.

Igual que en todos los virus de cadena negativa, las plantillas para la síntesis del RNA viral permanecen recubiertas de nucleoproteínas. El único RNA completamente libre es el mRNA. La primera etapa en la replicación del genoma es la producción de copias completas de las cadenas positivas de cada segmento. Estas copias antígenoma difieren de los mRNA en ambos extremos terminales: los extremos 5' no están rematados y los extremos 3' no están truncados ni poliadenilados. Estas copias sirven después como plantillas para sintetizar copias fieles del RNA genómico.

Puesto que existen secuencias comunes en ambos extremos de todos los segmentos del RNA viral, el mecanismo sintetizador del RNA puede reconocerlas eficazmente. Presuntamente los segmentos entremezclados del genoma derivados de diferentes células progenitoras coinfectadas son los responsables de la elevada frecuencia del reordenamiento genético característico de los virus de la influenza. Se ha observado una frecuencia de reordenamiento hasta de 40%.

D. Maduración

El virus madura por gemación a partir de la superficie de la célula. Los componentes individuales virales llegan al sitio de gemación por diferentes rutas. Las nucleocápsides se ensamblan en el núcleo y se desplazan fuera de la superficie celular. Las glucoproteínas HA y NA se sintetizan en el retículo endoplásmico, se modifican y ensamblan en trómeros y tetrameros, respectivamente, y se insertan en la membrana plasmática. La proteína M₁ sirve como puente para unir la nucleocápside a los extremos citoplásmicos de las glucoproteínas. Los viriones descendientes son enviados por gemación hacia fuera de las células. Durante esta secuencia de eventos, la HA se escinde en HA1 y HA2 si la célula huésped posee la enzima proteolítica apropiada. La NA retira las terminales de ácido siálico de las glucoproteínas de las superficies viral y celular, y facilita así la liberación de las partículas virales de la célula al evitar su agregación.

Muchas de las partículas no son infectantes. A veces las partículas no encapsidan en su totalidad el complemento de los segmentos del genoma: con frecuencia, uno de los grandes segmentos del RNA se pierde. Estas partículas no infectantes pueden ser causa de hemaglutinación y a veces interfieren con la replicación del virus intacto.

Los sistemas de genética reversa, que permiten la generación de virus infecciosos de la influenza a partir de cDNA clonado de segmentos de RNA viral, ya se encuentran disponibles en la actualidad y facilitarán los estudios funcionales y de mutagénesis.

INFECCIONES EN HUMANOS POR EL VIRUS DE LA INFLUENZA

Una comparación del virus de influenza A con otros virus que infectan el aparato respiratorio humano se ilustra en el cuadro 39-4. Aquí se considera el virus de la influenza.

Patogenia y patología

El virus de la influenza se propaga de una persona a otra por gotitas de secreción respiratoria llevadas por el aire, o por contacto con manos o superficies contaminadas. Unas pocas células del epitelio respiratorio se infectan si las partículas virales depositadas no son removidas por el reflejo de la tos y escapan a la neutralización por algún anticuerpo IgA específico preexistente o a la inactivación por los inhibidores inespecíficos en las secreciones mucosas. Los viriones se producen con rapidez y se propagan a las células adyacentes, donde se repite el ciclo de replicación. La NA viral disminuye la viscosidad de la película de moco de la vía respiratoria dejando expuestos los receptores de la superficie celular y promueve la propagación de líquido que contiene virus a las porciones más inferiores de la vía. En poco tiempo muchas células de la vía respiratoria están infectadas y finalmente mueren.

El período de incubación, desde el momento de la exposición al virus hasta el inicio de la enfermedad, varía de 1 a 4 días; esto depende en parte de la magnitud de la dosis viral y del estado inmunitario del huésped. La propagación de los virus se inicia el día que precede al inicio de los síntomas, alcanza su máximo en las primeras 24 h y permanece elevada durante 1 a 2 días, para luego declinar en los siguientes cinco días. Muy raras veces se recuperan virus infectantes de la sangre.

Se puede detectar el interferón en las secreciones respiratorias alrededor del primer día después de iniciada la propagación del virus. Los virus de la influenza son sensibles a los efectos antivirales del interferón y se estima que la respuesta del interferón contribuye a que el huésped se recupere de la infección. Durante 1 a 2 semanas no pueden detectarse anticuerpos específicos ni respuestas mediadas por células.

Las infecciones por el virus de la influenza producen destrucción celular y descamación de la superficie mucosa de la vía respiratoria, pero no afectan la capa basal del epitelio. La reparación completa del daño celular pro-

Cuadro 39-4. Comparación de virus que infectan el aparato respiratorio humano.

Virus	Enfermedad	Número de serotipos	Inmunidad de por vida para la enfermedad	Vacuna disponible	Latencia viral
Virus de RNA					
Virus de la influenza A	Influenza	Muchos	No	+	-
Virus de la parainfluenza	Crup	Muchos	No	-	-
Virus sincitial respiratorio	Bronquiolitis	Uno	No	-	-
Virus de la rubéola	Rubéola	Uno	Sí	+	-
Virus del sarampión	Sarampión	Uno	Sí	+	-
Virus de parotiditis	Parotiditis, meningitis	Uno	Sí	+	-
Rinovirus	Resfriado común	Muchos	No	-	-
Coronavirus	Resfriado común	Muchos	No	-	-
Coxsackievirus	Herpangina, pleurodinia	Muchos	No	-	-
Virus de DNA					
Virus de herpes simple tipo 1	Gingivostomatitis	Uno	No	-	+
Virus Epstein-Barr	Mononucleosis infecciosa	Uno	Sí	-	+
Virus de la varicela zoster	Varicela, herpes	Uno	Sí	+	+
Adenovirus	Faringitis, neumonía	Muchos	No	-	+

¹Inmunidad de por vida para la varicela pero no para el herpes zoster.

bablemente tarda más de un mes. La lesión producida por el virus al epitelio de la vía respiratoria disminuye la resistencia de éste a los invasores bacterianos secundarios, en especial estafilococos, estreptococos y *Haemophilus influenzae*.

Los síntomas locales probablemente pueden explicarse por el edema y la infiltración de mononucleares en respuesta a la muerte celular y por la descamación producida por la replicación del virus. Los síntomas sistémicos notables observados en la influenza probablemente reflejan la producción de citocinas.

Datos clínicos

La influenza ataca principalmente al aparato respiratorio superior. Presenta un riesgo grave para los ancianos, los muy jóvenes y las personas con condiciones médicas subyacentes como problemas de pulmón, riñón o corazón, diabetes o cáncer.

A. Influenza no complicada

Los síntomas de la influenza típica frecuentemente se presentan de manera súbita e incluyen escalofríos, cefalea y tos seca, seguidos poco después por fiebre elevada, dolor muscular generalizado, malestar y anorexia. La fiebre por lo general dura tres días, igual que los síntomas sistémicos. Típicamente, los síntomas respiratorios duran otros 3 a 4 días. La tos y la debilidad pueden persistir por 2 a 4 semanas después que los síntomas principales han cedido. En ocasiones la infección es leve o asintomática. Los síntomas descritos corresponden a cualquier cepa de la influenza A o B. En contraste, la influenza C rara vez causa el síndrome de

influenza, en vez de eso causa un resfriado común. La rinitis y la tos podrían durar varias semanas.

En los niños, los síntomas clínicos de la influenza son similares a los observados en adultos, aunque los niños pueden presentar más fiebre y mayor incidencia de manifestaciones gastrointestinales como vómito. A veces aparecen convulsiones febriles. El virus de la influenza A es causa importante de crup, a veces grave, en los niños menores de un año de edad. Por último, puede desarrollarse otitis media.

Cuando la influenza se presenta de manera epidémica, los datos clínicos son bastante consistentes, de modo que en la mayor parte de los casos se puede diagnosticar la enfermedad. Los casos esporádicos no se diagnostican con base en la clínica, puesto que las manifestaciones de la enfermedad no se distinguen de las debidas a otros patógenos de las vías respiratorias. Sin embargo, estos agentes rara vez son causa de neumonía viral grave, una complicación de la infección por el virus de la influenza A.

B. Neumonía

Las complicaciones graves por lo general sólo se presentan en los ancianos y en los pacientes debilitados, en especial con enfermedad crónica subyacente. En algunas epidemias, el embarazo ha sido un probable factor de riesgo de complicaciones mortales. El impacto mortal de una epidemia de influenza se refleja en el exceso de muertes debidas a neumonía y a enfermedades cardiopulmonares.

La neumonía que complica las infecciones de la influenza puede ser viral, bacteriana secundaria o una combinación de las dos. El incremento de las secreciones mucosas ayuda a arrastrar a los agentes hacia las vías respiratorias inferiores. La infección por influenza incrementa la susceptibilidad de los pacientes a las superinfecciones bacte-

riana
de lo
sumi
bacte
con
cocc

dame
por i
aurei
mole
terias
una p
fluen
mayo

C. S
El sín
adoles
tasa d
sa del
común
por el
relac
secuen
ha dis
con sí

inmu

La inn
subtip
tantes
cuerpo
protec
relacio
menor
para tr
anticue
la ribon
tipifica

La
cos y c
nasales
son imp
séricos
que los
general
difican
bajos d
variante
incomp
el mism

Lo
lación a
da. Cua
una per
puede p
infeccio
respues

rianas. Esto se atribuye a la falta de la actividad depuradora de los cilios, a la disfunción de las células fagocíticas y al suministro de un medio propicio para el crecimiento de las bacterias en el exudado alveolar. Las bacterias patógenas con gran frecuencia son *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *H. influenzae*.

La neumonía viral-bacteriana combinada es aproximadamente tres veces más común que la neumonía primaria por influenza. Se informa la infección concurrente por *S. aureus* con una tasa de mortalidad mayor de 42%. Una base molecular para un efecto sinérgico entre los virus y las bacterias puede ser que algunas cepas del *S. aureus* secretan una proteasa capaz de escindir la HA del virus de la influenza, permitiendo así la producción de títulos mucho mayores de virus infectante en los pulmones.

C. Síndrome de Reye

El síndrome de Reye es una encefalopatía aguda de niños y adolescentes, frecuentemente entre 2 y 16 años de edad. La tasa de mortalidad es alta (10 a 40%). Se desconoce la causa del síndrome de Reye, pero es una complicación poco común de la influenza B, la influenza A y de las infecciones por el herpesvirus varicela zoster. Existe una posible interrelación entre el empleo de salicilatos y el desarrollo subsecuente del síndrome de Reye. La incidencia del síndrome ha disminuido con el uso reducido de salicilatos en niños con síntomas parecidos a los de la gripe.

inmunidad

La inmunidad a la influenza es duradera y específica de subtipo. Los anticuerpos contra la HA y la NA son importantes en la inmunidad a la influenza, en tanto que los anticuerpos a otras proteínas codificadas por el virus no son protectores. La resistencia al desarrollo de la infección se relaciona con los anticuerpos contra la HA, en tanto que la menor gravedad de la enfermedad y la menor capacidad para transmitir el virus a los contactos se vincula con los anticuerpos dirigidos contra la NA. Los anticuerpos contra la ribonucleoproteína son específicos de tipo y útiles para tipificar los virus aislados (como influenza A o B).

La protección se correlaciona con los anticuerpos séricos y con los anticuerpos secretorios IgA de las secreciones nasales. Los anticuerpos secretorios locales probablemente son importantes para prevenir la infección. Los anticuerpos séricos persisten durante muchos meses o años, en tanto que los anticuerpos secretorios son de corta duración (en general sólo algunos meses). Los anticuerpos también modifican el curso de la enfermedad. Una persona con títulos bajos de anticuerpos puede infectarse, pero presenta una variante leve de la enfermedad. A veces la inmunidad es incompleta, puesto que puede acontecer la reinfección con el mismo virus.

Los tres tipos de virus de la influenza guardan interrelación antigénica y por tanto no inducen protección cruzada. Cuando un tipo viral sufre una desviación antigénica, una persona con anticuerpos previos de la cepa original puede presentar una infección leve con la nueva cepa. Las infecciones posteriores o las inmunizaciones refuerzan las respuestas de los anticuerpos para el primer subtipo de in-

fluenza experimentada años después, un fenómeno llamado "pecado antigénico original".

Se cree que la función primaria de la respuesta inmunitaria mediada por células en la influenza es contrarrestar una infección establecida; las células citotóxicas T producen lisis de células infectadas. La respuesta de los linfocitos T citotóxicos es una reacción cruzada (capaz de producir lisis en las células infectadas con cualquier subtipo de virus) y parece estar dirigida de manera predominante contra las proteínas internas (NP, M) y las glucoproteínas de la superficie.

Diagnóstico de laboratorio

Las características clínicas de la infección respiratoria viral pueden tener como causa muchos virus diferentes. En consecuencia, el diagnóstico de la influenza se basa en el aislamiento del virus, la identificación de los antígenos virales o de los ácidos nucleicos virales en las células del paciente, o en la demostración de una respuesta inmunológica específica del paciente.

A. Aislamiento e identificación del virus

Los lavados nasales, las gárgaras y los frotis faríngeos son las mejores muestras para aislar el virus y deben obtenerse en los tres primeros días de iniciados los síntomas. La muestra se mantiene a 4 °C hasta inocularla en el cultivo de células, puesto que la congelación y el descongelamiento reducen la capacidad para recuperar el virus. Sin embargo, si el tiempo de almacenamiento excede de cinco días, la muestra debe congelarse a -70 °C.

Los huevos embrionados y las células renales primarias de mono son los sistemas preferidos para aislar el virus de la influenza, aunque algunas líneas celulares continuas se pueden utilizar. Los cultivos de células inoculados se incuban en ausencia de suero, que a veces contiene factores inhibitorios virales inespecíficos, y en presencia de tripsina, la cual escinde y activa la HA de modo que la replicación del virus se propaga a través del cultivo.

Los cultivos de células se pueden probar para la presencia de virus mediante hemadsorción de 3 a 5 días después de la inoculación, o se puede examinar el líquido de cultivo en busca de virus después de 5 a 7 días mediante hemaglutinación. Si los resultados son negativos se efectúa una nueva siembra a un cultivo fresco. Este paso puede ser necesario debido a que los virus primarios aislados con frecuencia presentan dificultad para crecer y son de crecimiento lento.

Los virus aislados se identifican por inhibición de la hemaglutinación, un procedimiento que permite determinar con rapidez el tipo y el subtipo de virus. Para hacer esto se debe emplear suero de referencia de las cepas prevalentes en ese momento. La hemaglutinación por el nuevo virus aislado será inhibida por el antisuero al subtipo homólogo.

Para un diagnóstico rápido, se pueden inocular cultivos celulares realizados sobre cubreobjetos en frascos (ámpulas), para posteriormente teñirlos 1 o 2 días después con *pools* (reservorios) de anticuerpos monoclonales contra agentes respiratorios. Los resultados positivos se confirman mediante el solo uso de anticuerpos fluorescentes.

Es posible identificar directamente el antígeno viral en las células exfoliadas de aspirados nasales con el uso de anticuerpos fluorescentes. Esta prueba es rápida, pero no es tan sensible como el aislamiento del virus, no proporciona detalles completos acerca de la cepa viral y el virus aislado no es caracterizable. También es posible el empleo de pruebas rápidas basadas en la detección del RNA de la influenza en las muestras clínicas mediante la reacción en cadena de la polimerasa.

B. Serología

Los anticuerpos para varias proteínas virales (hemaglutinina, neuraminidasa, nucleoproteína y matriz) se producen durante la infección del virus de la influenza. La respuesta inmunitaria contra la glucoproteína HA se relaciona con la resistencia a la infección.

Las pruebas serodiagnósticas rutinarias en uso se basan en la inhibición de la hemaglutinación (HI) y ELISA. Se requieren pares de muestras del suero de los convalecientes y del enfermo agudo, puesto que las personas normales con frecuencia poseen anticuerpos a la influenza. Debe presentarse un incremento de cuatro veces o mayor en el título de anticuerpos para indicar la infección por influenza. El suero humano con frecuencia contiene inhibidores de mucoproteína inespecíficos, los cuales deben destruirse después de la prueba HI.

La prueba HI revela la cepa del virus causante de la infección sólo si se dispone del antígeno correcto. Las pruebas de neutralización son las más sensibles y las que predicen mejor la susceptibilidad a la infección, pero son más difíciles y consumen más tiempo en comparación con otras pruebas. La prueba de ELISA es más sensible que otras.

Pueden aparecer complicaciones al tratar de identificar la cepa del virus de la influenza infectante mediante la respuesta de anticuerpos del paciente porque frecuentemente se presentan respuestas anamnésicas.

Epidemiología

Los virus de la influenza se presentan a nivel mundial y causan brotes anuales de intensidad variable. Se estima que la epidemia anual causa de 3 a 5 millones de casos de enfermedad grave y de 250 000 a 500 000 muertes en todo el mundo.

Los tres tipos de influenza varían notablemente en sus patrones epidémicos. La influenza C es la menos significativa; es causa de enfermedad respiratoria leve, esporádica, pero no de influenza epidémica. La influenza B a veces es causa de epidemia, pero la influenza tipo A puede extenderse a través de los continentes y producir epidemias masivas mundiales denominadas pandemias.

La incidencia de la influenza alcanza su máximo durante el invierno. En EUA las epidemias de influenza en general acontecen desde enero hasta abril (y de mayo a agosto en el hemisferio sur). Debe existir una cadena de transmisión continua persona a persona para que el virus sobreviva. Puede detectarse cierta actividad viral en grandes centros de población durante todo el año, lo cual indica que el virus permanece endémico en la población y produce algunas infecciones subclínicas o menores.

Los brotes periódicos aparecen debido a los cambios antigénicos en una o ambas glucoproteínas de superficie del virus. Cuando el número de personas susceptibles en una población alcanza un valor suficiente, la nueva cepa del virus produce una epidemia. El cambio puede ser gradual (de ahí el término "desviación antigénica"), debido a mutaciones puntuales reflejadas en las alteraciones en los sitios antigénicos principales sobre la glucoproteína (véase figura 39-3), o drástico y brusco (por tanto el término "cambio antigénico"), debido al reordenamiento genético durante la infección concurrente con una cepa no interrelacionada.

Los tres tipos de virus de la influenza muestran desviación antigénica. Sin embargo, sólo la influenza A muestra cambio antigénico, que presuntamente se debe a que los tipos B y C se restringen a humanos, en tanto que el virus influenza A circula en poblaciones de animales y aves. Estas cepas animales explican el cambio antigénico mediante el reordenamiento genético en los genes de la glucoproteína. El virus de la influenza A se ha recuperado de muchas aves acuáticas, especialmente patos; de aves domésticas como pavos, pollos, gansos y patos; de cerdos y equinos; e incluso de focas y ballenas.

Los análisis de la secuencia del virus de la influenza A aislado de muchos huéspedes en diferentes regiones del mundo apoyan la teoría de que todos los virus de la influenza en los mamíferos derivan del reservorio de la influenza aviar. De los 15 subtipos de la HA observados en aves, sólo unos pocos se han transferido a los mamíferos (H1, H2, H3 y H5 en humanos; H1 y H3 en cerdos; y H3 y H7 en equinos). El mismo patrón se conserva para la NA: se conocen nueve subtipos de la NA para aves, sólo dos de los cuales se encuentran en humanos (N1, N2). Los virus de la influenza no parecen ser objeto de cambio antigénico en las aves, quizá debido a su corta vida. Esto significa que los genes causantes de las pandemias previas de influenza en humanos aún existen sin cambios en el reservorio de las aves acuáticas.

La influenza aviar varía desde infección sumamente mortal en pollos y pavos hasta infecciones inaparentes. La mayor parte de las infecciones por influenza en patos son avirulentas. Los virus de la influenza de los patos se multiplican en las células que revisten el intestino y se eliminan en grandes concentraciones en la materia fecal dentro del agua, donde permanecen viables por días o semanas. Es posible que la influenza aviar sea una infección de origen hídrico, desplazada de las aves silvestres a las domésticas y a los cerdos.

Los brotes de influenza acontecen en ondas, aunque no hay una periodicidad regular en la aparición de las epidemias. La experiencia en cualquier año determinado refleja el juego entre la amplitud de la desviación antigénica del virus predominante y la disminución de la inmunidad de la población. El periodo entre las ondas epidémicas de la influenza A tiende a ser de 2 a 3 años; el periodo interepidémico para el tipo B es más prolongado (3 a 6 años). Cada 10 a 40 años, cuando aparece un nuevo subtipo de la influenza A, se produce una pandemia; esto tuvo lugar en 1918 (H1N1), 1957 (H2N2) y 1968 (H3N2). El subtipo H1N1 volvió a aparecer en 1977 pero no se convirtió en una epidemia. Desde 1977, los virus de la influenza A (H1N1) y (H3N2) y los virus de la influenza B han estado en circulación mundial.

En 1997, en Hong Kong, se presentó la primera infección documentada en humanos causada por el virus de la influenza A de aves (H5N1). La fuente fue un ave doméstica. En ese entonces se reportaron al menos 18 humanos infectados, de los cuales seis murieron. El virus no pareció haberse transmitido de humano a humano. Los aislados de casos humanos contenidos en los ocho segmentos de genes de RNA de virus aviar indican que este virus saltó directamente de las aves al humano.

Con excepción del brote de Hong Kong, todas las cepas causales de las pandemias humanas corresponden a clases intermedias entre los virus de la influenza humana y de la influenza en aves. La evidencia disponible sustenta el modelo donde los cerdos sirven como recipientes mezcladores para las clases intermedias, ya que sus células contienen receptores reconocidos tanto por virus humanos como por virus avícolas (figura 39-5). Los niños en edad escolar son los vectores predominantes para la transmisión de la influenza. El hacinamiento en las escuelas favorece la transmisión del aerosol de virus y los niños llevan el virus al seno de la familia.

El impacto económico de los brotes de la influenza A es significativo debido a la morbilidad que acompaña a las infecciones. Los costos económicos han sido estimados en 10 a 60 millones de dólares por millón de población en países industrializados, lo que depende del tamaño de la epidemia.

La vigilancia para los brotes de la influenza es más amplia que para cualquier otra enfermedad, con objeto de identificar la aparición temprana de nuevas cepas y preparar vacunas contra ellas antes de que se presente una epidemia. Esta vigilancia puede extenderse a la población de animales, en especial aves, cerdos y equinos. El aislamiento de un virus con una hemaglutinina alterada a finales de la primavera durante una epidemia mínima indica una posible epidemia en el invierno siguiente. Se ha observado que este signo de alarma, denominado "onda de alerta", precede a las epidemias de influenza A y B.

El virus de la influenza humana fue aislado por primera vez en 1933 en hurones. Los subtipos que circularon antes de esa fecha se han deducido mediante seroepidemiología

retrospectiva. Esta técnica se basa en la detección HI de los títulos de la inhibición de la hemaglutinación contra un gran número de subtipos de la HA del virus con suero de muchas personas en diferentes grupos de edad.

Al principio de la vida, la amplitud de la diversidad de los anticuerpos a la influenza es estrecha, pero progresivamente se amplía en los años subsiguientes. Los anticuerpos adquiridos por las infecciones iniciales en la infancia reflejan los antígenos dominantes de las cepas prevalentes. La exposición posterior a los virus amplía la diversidad de los anticuerpos hacia un número mayor de antígenos comunes de los virus de la influenza. La subsecuente exposición en la vida a cepas antigénicamente interrelacionadas resulta en el reforzamiento progresivo de los anticuerpos primarios. Las concentraciones mayores de anticuerpos en un grupo de edad particular refleja, por tanto, los antígenos dominantes del virus causante de las infecciones en la infancia por ese grupo. En consecuencia, es posible obtener una recapitulación serológica de las infecciones pasadas con los virus de la influenza de diferente constitución antigénica al estudiar la distribución de los anticuerpos a la influenza en los grupos de edades de las poblaciones normales.

Este criterio sugiere que la epidemia de 1890 se debió probablemente a un subtipo H2N8, y la que sucedió en 1900, a un virus H3N8. La catastrófica pandemia de 1918 a 1919 (influenza española) se debió a la brusca aparición del subtipo H1N1 de la influenza, similar a la porcina. (Más de 20 millones de personas murieron durante esta pandemia, en especial por complicación con neumonía bacteriana.) Se han comprobado cambios antigénicos subsiguientes mediante el aislamiento del virus: el H2N2 (gripe asiática) apareció en 1957 y fue sustituido en 1968 por el subtipo H3N2 (gripe de Hong Kong). La cepa H1N1 reapareció en 1977 (gripe rusa).

La tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa ha permitido analizar fragmentos génicos del virus de la influenza a partir de una muestra de tejido pulmonar conservada de una víctima de la epidemia de la influenza española de 1918. Las secuencias documentan que el agente causal fue el virus de la influenza A H1N1, probablemente de origen aviar. La base de su alta patogenicidad aún se desconoce.

Prevención y tratamiento con fármacos

El hidrocloreto de amantadina y un análogo, rimantadina, son agentes antivirales de uso sistémico en el tratamiento y profilaxis de la influenza A. Los inhibidores de NA zanamivir y oseltamivir fueron aprobados en 1999 para el tratamiento de la influenza A y la influenza B. Para maximizar su eficacia, los fármacos se deben administrar con prontitud al inicio de la enfermedad.

Prevención y control con vacunación

Las vacunas con virus inactivado son el principal método de prevención de la influenza en EUA. Sin embargo, ciertas características del virus de la influenza, hacen especialmente difícil la prevención y el control de la enfermedad mediante inmunización. Las vacunas existentes continuamente

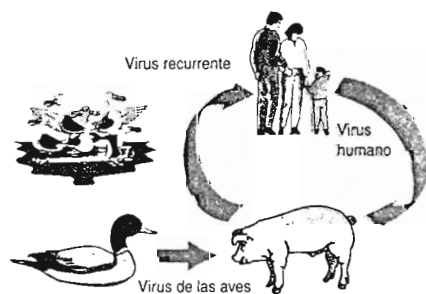


Figura 39-5. El cerdo puede actuar como huésped intermediario para la generación de los virus de la influenza recurrentes con potencial para generar pandemias. (Reproducido con autorización de Claas ECJ, Osterhaus ADME: New clues to the emergence of flu pandemic. Nat Med 1998;4:1122.)

te se vuelven obsoletas conforme el virus presenta desviación y cambio antigénicos. Los programas de vigilancia de las agencias gubernamentales y de la Organización Mundial de la Salud vigilan de manera constante los subtipos de la influenza que circulan alrededor del mundo, para detectar con prontitud la aparición y propagación de nuevas cepas.

Otros problemas son dignos de mencionar. Aunque la protección puede alcanzar de 70 a 100% en adultos saludables, la frecuencia de protección es menor (30 a 60%) entre los ancianos y niños jóvenes. Las vacunas virales inactivadas por lo común no generan buenas respuestas inmunes locales mediadas por IgA o por células. La respuesta inmune se ve afectada si la persona es "cebada" por haber tenido una experiencia antigénica previa con un virus de influenza A del mismo subtipo.

A. Preparación de vacunas con virus inactivado

Las vacunas con virus de la influenza A y B inactivados están autorizadas para empleo parenteral en humanos. Las agencias federales y la Organización Mundial de la Salud emiten recomendaciones cada año acerca de cuáles cepas deben incluirse en la vacuna. En general, la vacuna es una mezcla que contiene 1 o 2 virus tipo A y un virus tipo B de las cepas aisladas en los brotes del invierno previo.

Las cepas semilla seleccionadas para producir la vacuna se hacen crecer en huevos embrionados, sustrato empleado para producirla. A veces el virus natural aislado crece tan escasamente en los huevos que no permite producir la vacuna; en este caso se prepara en el laboratorio un virus modificado. A continuación se emplea este virus, que porta los genes de antígenos de superficie, para producir la vacuna deseada mediante la replicación en el laboratorio de los genes procedentes de los virus crecidos en los huevos.

Se cosecha el virus del líquido alantoideo del huevo, se purifica, se concentra por centrifugación zonal y se inactiva con formalina o β -propiolactona. En cada dosis de vacuna se estandariza la cantidad de la HA (15 μ g de antígeno aproximadamente), pero no la de NA, puesto que es más lábil en las condiciones de purificación y almacenamiento. Cada dosis de vacuna contiene el equivalente a casi 10 000 millones de partículas virales.

Las vacunas son de virus completos, subviriones o preparaciones de antígenos de superficie. La vacuna de virus completos contiene virus intactos inactivados; la vacuna subviriones contiene virus purificados alterados con detergentes; las vacunas de antígenos de superficie contienen las glucoproteínas HA y NA purificadas. Todas son eficaces.

B. Empleo de vacunas en la influenza

La única contraindicación para la vacunación es un antecedente de alergia a la proteína del huevo. Puesto que las cepas de la vacuna crecen en huevos, siempre contienen algunos antígenos de la proteína de éstos.

En grupos de mayor riesgo se recomienda la vacunación anual contra influenza. Esto incluye a las personas con mayores posibilidades de presentar complicaciones relacionadas con la infección por influenza (cardiopatías o personas con enfermedad pulmonar crónica, incluso niños con asma o con trastornos metabólicos o renales; residentes de

asilos y pacientes de 65 años de edad o mayores) y personas quienes pueden transmitir la influenza a los grupos de mayor riesgo (personal médico, empleados en instalaciones de atención prolongada, miembros del hogar).

C. Intentos para desarrollar vacunas con virus vivos

Una vacuna de virus vivo debe atenuarse de modo que no induzca la enfermedad destinada a prevenirse. En vista del cambio constante de la cara del virus de la influenza en la naturaleza y los extensos esfuerzos requeridos en el laboratorio para atenuar un virus virulento, la única estrategia factible es diseñar una manera de transferir los genes atenuantes definidos de un virus maestro donador atenuado a cada nuevo virus epidémico o pandémico aislado.

Están bajo evaluación varios criterios para la preparación de vacunas. Un virus donador adaptado al frío, capaz de crecer a 25 °C, pero no a 37 °C, temperatura de las vías respiratorias bajas, debe replicarse hasta cierto grado en la nasofaringe, donde la temperatura es más fría (33 °C). Un virus de la influenza, trivalente, adaptado al frío, vivo atenuado es la base de una vacuna administrada mediante un vaporizador aerosol nasal, la cual ha demostrado su eficacia en estudios clínicos experimentales en niños.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- ¿Cuál de siguientes los enunciados en relación con la prevención y el tratamiento de la influenza es correcto?
 - No se recomiendan las dosis potenciadoras de la vacuna
 - Los fármacos que inhiben a la neuraminidasa son activos sólo contra la influenza A
 - Al igual que con otras vacunas de virus vivos, la vacuna de influenza no se debe suministrar a mujeres embarazadas
 - La vacuna de la influenza contiene varios serotipos del virus
 - Las cepas de virus en la vacuna de la influenza no varían de un año a otro
- La neuraminidasa del virus de la influenza:
 - Se incrusta en la superficie externa de la cubierta viral
 - Forma una estructura de picos compuesta de cuatro monómeros idénticos, cada uno con actividad enzimática
 - Facilita la liberación de partículas de virus desde las células infectadas
 - Disminuye la viscosidad de la película mucosa en el tracto respiratorio
 - Todas las anteriores
- ¿Cuál de las siguientes afirmaciones refleja la patogenesis de la influenza?
 - El virus entra al huésped por gotitas arrastradas por el aire
 - La viremia es común
 - Con frecuencia el virus establece infecciones persistentes en el pulmón
 - La neumonía no se relaciona con las infecciones bacterianas secundarias
 - La infección viral no mata las células del aparato respiratorio

4.
A.
B.
C.
D.
E.
5.
A.
B.
C.
D.
E.
6.
A.
B.
C.
D.
E.
7.
A.
B.
C.
D.
E.

REFE

Belsho

1.
E

Couch

2.
Lamb

3.
Preven

4.
M

5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
19.
20.
21.
22.
23.
24.
25.
26.
27.
28.
29.
30.
31.
32.
33.
34.
35.
36.
37.
38.
39.
40.
41.
42.
43.
44.
45.
46.
47.
48.
49.
50.
51.
52.
53.
54.
55.
56.
57.
58.
59.
60.
61.
62.
63.
64.
65.
66.
67.
68.
69.
70.
71.
72.
73.
74.
75.
76.
77.
78.
79.
80.
81.
82.
83.
84.
85.
86.
87.
88.
89.
90.
91.
92.
93.
94.
95.
96.
97.
98.
99.
100.

4. ¿Por cuál de los siguientes síntomas se caracteriza la influenza?:
 - A. Fiebre
 - B. Dolores musculares
 - C. Malestar general
 - D. Tos seca
 - E. Todas las anteriores
5. ¿En cuál constituyente viral se encuentra el antígeno específico del tipo (A, B o C) de los virus de la influenza?:
 - A. Hemagglutina
 - B. Neuraminidasa
 - C. Nucleocápside
 - D. Complejo de polimerasa
 - E. Proteína no estructural mayor
 - F. Lípido en la cubierta viral
6. Una paciente de 70 años de edad de una residencia de ancianos rechaza la vacuna de la influenza y después manifiesta esta enfermedad. La paciente muere de neumonía aguda una semana después de contraer la enfermedad. ¿Cuál de las siguientes es la causa más común de neumonía aguda posterior a la influenza?:
 - A. *Legionella*
 - B. *Staphylococcus aureus*
 - C. Sarampión
 - D. Citomegalovirus
 - E. *Listeria*
7. ¿Cuál de los siguientes enunciados relacionado con la deriva antigénica en los virus de la influenza es correcto?:
 - A. Da como resultado cambios antigénicos importantes
 - B. Sólo la presentan los virus de la influenza A
 - C. Se debe a mutaciones desfasadas en genes virales
 - D. Produce nuevos subtipos al paso del tiempo
 - E. Afecta sobre todo a la proteína matriz
8. Un médico de 32 años de edad presenta un síndrome "parecido a la influenza" con fiebre, ardor de garganta, cefalea y mialgia. Con el fin de proporcionar la confirmación del laboratorio para influenza, se ordenó un cultivo para el virus. ¿Cuál de las siguientes sería la mejor muestra para aislar el virus causante de la infección?:
 - A. Heces
 - B. Lavado nasofaríngeo
 - C. Líquido vesical
 - D. Sangre
 - E. Saliva
9. ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca del aislamiento de los virus de la influenza es correcto?:
 - A. El diagnóstico de una infección por virus de influenza sólo se puede hacer al aislar el virus
 - B. El aislamiento del virus de la influenza se hace por medio de ratones recién nacidos
 - C. El aislamiento del virus puede ayudar a determinar la epidemiología de la enfermedad
 - D. Los aislados primarios del virus de la influenza se desarrollan con facilidad en cultivo celular
10. ¿Cuál de los siguientes es, al parecer, el reservorio principal para las variantes de desplazamiento antigénico del virus de la influenza?:
 - A. Portadores humanos crónicos del virus
 - B. Aguas residuales
 - C. Cerdos, caballos y aves de corral
 - D. Mosquitos
 - E. Roedores

Respuestas: 1 = D; 2 = C; 3 = A; 4 = E; 5 = C; 6 = B; 7 = D; 8 = B; 9 = C; 10 = C

REFERENCIAS

- Belshe RB *et al.*: The efficacy of live attenuated, coldadapted, trivalent, intranasal influenzavirus vaccine in children. *N Engl J Med* 1998;338:1405.
- Couch RB: Prevention and treatment of influenza. *N Engl J Med* 2000;343:1778.
- Lamb RA, Krug RM: Orthomyxoviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Prevention and control of influenza. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51(RR-3):1.
- Reid AH *et al.*: Origin and evolution of the 1918 "Spanish" influenza virus hemagglutinin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:1651.
- Wright PF, Webster RG: Orthomyxoviruses. In: *Fields Virology* 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

Paramixovirus y virus de la rubéola

Los paramixovirus incluyen los agentes más importantes de infecciones respiratorias en lactantes y niños pequeños (virus sincitial respiratorio y virus de la parainfluenza), así como los agentes causantes de dos de las enfermedades contagiosas más comunes de la infancia (parotiditis y sarampión). La Organización Mundial de la Salud estima que las infecciones respiratorias agudas y neumonía son causa, cada año, a escala mundial, de cuatro millones de muertes en niños menores de cinco años de edad. En este grupo de edad los principales patógenos respiratorios son los paramixovirus.

Todos los miembros de la familia *Paramyxoviridae* inician la infección a través del aparato respiratorio. Los patógenos respiratorios se limitan a reproducirse en el epitelio respiratorio, en tanto que los virus del sarampión y la parotiditis se diseminan por todo el cuerpo y producen enfermedad generalizada.

El virus de la rubéola, aunque clasificado como togavirus debido a sus propiedades químicas y físicas (véase capítulo 29), se puede estudiar con los paramixovirus con base en sus características epidemiológicas.

PROPIEDADES DE LOS PARAMIXOVIRUS

Las principales propiedades de paramixovirus se muestran en el cuadro 40-1. Las diferencias entre paramixovirus y ortomixovirus se resumen en el cuadro 39-2. A pesar de la similitud en los nombres, las dos familias difieren en muchas propiedades biológicas.

Estructura y composición

La morfología de los *Paramyxoviridae* es pleomórfica con partículas de 50 nm o más de diámetro, en ocasiones alcanzan hasta 700 nm. En la figura 40-1 se muestra una partícula tipo. La cubierta del paramixovirus parece frágil y la partícula viral es lábil en las condiciones de almacenamiento y susceptible de distorsión en las micrografías electrónicas.

El genoma viral es RNA lineal, de sentido negativo, de una sola hebra, no segmentado, de casi 15 kb de tamaño (figura 40-2). Puesto que el genoma es no segmentado, esto anula cualquier oportunidad de reclasificación. Lo que da como resultado el hecho de que los miembros del grupo de paramixovirus sean estables desde el punto de vista antigénico.

La mayor parte de los paramixovirus contiene seis proteínas estructurales. Tres proteínas forman complejos con RNA viral: la nucleoproteína (NP o N) que forma la nucleocápside helicoidal (de 13 o 18 nm de diámetro) y representa la principal proteína interna, y dos proteínas grandes (designadas P y L), las cuales probablemente tienen actividad de polimerasa viral y participan en la transcripción y replicación del RNA.

Tres proteínas participan en la formación de la cubierta viral. Una proteína matriz (M) subyacente en la cubierta viral tiene afinidad por la NP y las glucoproteínas de la superficie viral, y es importante en el ensamblado del virión. La nucleocápside se rodea de una cubierta lipídica tachonada con espículas de 8 a 12 nm formadas por dos glucoproteínas transmembranales diferentes. La actividad de estas glucoproteínas de superficie ayudan a distinguir los diversos géneros de la familia *Paramyxoviridae* (cuadro 40-2). La proteína mayor (HN o H) puede mostrar actividades de hemaglutinina y de neuraminidasa y se encarga de unirse a la célula huésped. En el virión maduro está ensamblada como un tetrámero. La otra glucoproteína F, media la fusión de la membrana y muestra actividad de hemolisina. Al parecer los neumovirus contienen dos proteínas más de cubierta que son pequeñas (M2 y SH).

En la figura 40-3 se muestra un diagrama de la partícula paramixovirus.

Cuadro 40-1. Propiedades importantes de los paramixovirus

Virión: esférico, pleomórfico, 150 nm o más de diámetro (nucleocápside helicoidal, de 13 a 18 nm)
Composición: RNA (1%), proteínas (73%), lípidos (20%), carbohidratos (6%)
Genoma: RNA de cadena sencilla, lineal, no segmentado, en sentido negativo, no infeccioso, aproximadamente 15 kb
Proteínas: de 6 a 8 proteínas estructurales
Cubierta: contiene la glucoproteína viral hemaglutinina (HN) (algunas veces posee actividad de neuraminidasa) y glucoproteína de fusión (F); muy frágil
Replicación: citoplasmática; gemación de partículas en la membrana plasmática
Características notables: Antigénicamente estable Partículas lábiles pero muy infectantes

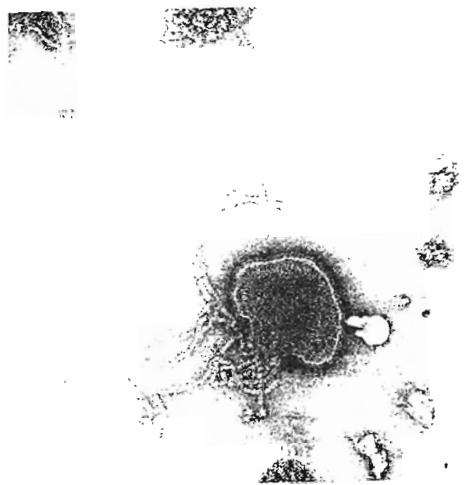


Figura 40-1. Ultraestructura del virus de la parainfluenza tipo 1. El virión está parcialmente fragmentado para mostrar la nucleocápside. Las prolongaciones de la superficie son visibles a lo largo del borde de la partícula. (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

Clasificación

La familia *Paramyxoviridae* se divide en dos subfamilias y cuatro géneros (cuadro 40-2). La mayor parte de los miembros son monotípicos (es decir, constan de un solo serotipo); todos son antígenicamente estables.

El género *Respirovirus* contiene dos serotipos del virus parainfluenza humana, y el género *Rubulavirus* contiene otros dos parainfluenza virus, así como al virus de la parotiditis. Algunos virus animales se relacionan con cepas humanas. El virus Sendai de los ratones fue el primer virus de la parainfluenza aislado y en la actualidad se reconoce como causante de una infección común en colonias de ratones, es un subtipo del virus 1 del tipo humano. El SV5, un contaminante común de las células primarias de mono, es igual al tipo parainfluenza 2 canino; el virus de la fiebre del embarque del ganado bovino y ovino, el SF4, es un subtipo del tipo 3. El virus de la enfermedad de Newcastle, prototipo de los virus de la parainfluenza aviar, también se relaciona con virus humanos.

Los miembros de un género comparten determinantes antígenicos comunes. Aunque los virus pueden distinguirse antígenicamente mediante reactivos bien definidos, la hiperinmunización estimula anticuerpos de reactividad cruzada, los cuales reaccionan con los cuatro virus de la parainfluenza, el virus de la parotiditis y el virus de la enfermedad de Newcastle. Las respuestas heterotípicas de anticuerpo, incluso de anticuerpos dirigidos contra proteínas internas y de superficie del virus, comúnmente se observan en personas de edad avanzada. Este fenómeno dificulta el serodiagnóstico del tipo infectante más probable. Todos los miembros del género *Respirovirus* y *Rubulavirus* poseen actividades hemagglutinantes y de neuraminidasa, ambas efectuadas por la

glucoproteína HN, y también propiedades de fusión a membrana y hemolisina, que son funciones de la proteína F.

El género *Morbillivirus* incluye el virus del sarampión (rubéola) de los humanos y también el virus del moquillo canino, el virus de la fiebre epizootica de los bovinos, y el morbillivirus acuático que infecta mamíferos marinos. Estos virus se relacionan antígenicamente, pero no muestran reacción cruzada con miembros de los otros géneros. La proteína F parece estar muy conservada entre los morbillivirus, en tanto que la proteína H muestra mayor variabilidad. El virus del sarampión posee una hemagglutina, pero carece de actividad de neuraminidasa. Al contrario de los otros paramyxovirus, el virus del sarampión induce formación de inclusiones intranucleares.

El género *Henipavirus* contiene paramyxovirus zoonóticos que pueden infectar y causar enfermedad en humanos. Los virus Hendra y Nipah son miembros del género.

El virus sincitial respiratorio de los humanos y los bovinos, y el virus de la neumonía de los ratones, constituyen el género *Pneumovirus*. Hay dos cepas distintas en relación con el antígeno del virus respiratorio sincitial de los humanos, subgrupos A y B. La glucoproteína más grande de la superficie de los neumovirus carece de las actividades hemagglutinantes y de neuraminidasa características de los respirovirus y rubulavirus, por tanto se le designa como proteína G. La proteína F del virus sincitial respiratorio presenta actividad de fusión a membranas pero no actividad de hemolisina. Los patógenos respiratorios recientemente reconocidos de humanos se clasifican en el género *Metapneumovirus*.

Replicación de los paramyxovirus

El ciclo típico de reproducción de los paramyxovirus se ilustra en la figura 40-4.

A. Adhesión, penetración y pérdida de la cubierta del virus

Los paramyxovirus se adhieren a las células huéspedes a través de la glucoproteína hemagglutina (proteína HN o H). En el caso del virus del sarampión, el receptor es la molécula CD46 de la membrana. A continuación, la cubierta del virión se fusiona con la membrana celular gracias a la acción del producto de la escisión de la fusión de la glucoproteína F₁. Si el precursor F₀ no se escinde, no hay actividad de fusión; el virión no penetra y la partícula viral no puede iniciar la infección. La fusión efectuada por F₁ tiene lugar a pH neutro en el ambiente extracelular que permite la liberación de la nucleocápside viral directamente en el interior de la célula. Por tanto, los paramyxovirus pueden pasar por alto la internalización a través de endosomas.

B. Transcripción, traducción y replicación del RNA

Los paramyxovirus contienen un genoma de RNA de sentido negativo no segmentado. La RNA polimerasa viral elabora transcritos de RNA mensajero en el citoplasma de la célula. No se requieren iniciadores exógenos y, por tanto, no depende de las funciones del núcleo celular. Los mRNA son mucho más pequeños que las dimensiones del genoma; cada uno representa un solo gen. La secuencia reguladora de la

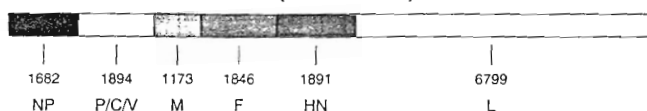
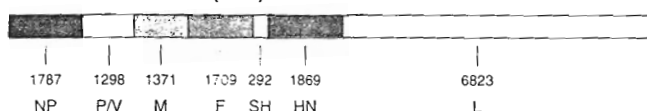
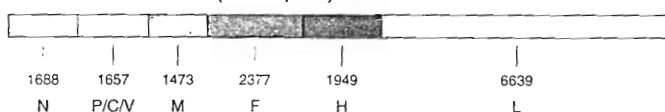
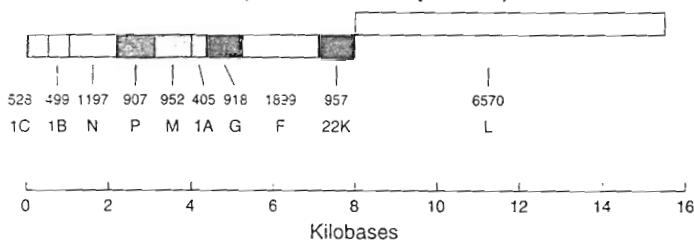
Género *Parainfluenzavirus* (virus Sendai)Género *Rubulavirus* (SV5)Género *Morbillivirus* (sarampión)Género *Pneumovirus* (virus sincitial respiratorio)

Figura 40-2. Mapas genéticos de miembros típicos de la familia *Paramyxoviridae*. El tamaño del gen está dibujado a escala, y los límites de los genes marcados por líneas verticales. Por debajo de cada gen se indica su tamaño (número de bases). (Adaptado de Lamb RA, Kolakofsky D: *Paramyxoviridae: The viruses and their replication*. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN *et al.* [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

transcripción en los límites del gen señala el inicio y la terminación de la transcripción. La posición de un gen respecto del extremo 3' del genoma se correlaciona con la eficiencia de la transcripción. La clase más abundante de transcritos en una célula infectada es la del gen NP, localizado cerca del extremo 3' del genoma, en tanto que la menos abundante es la del gen L, localizado en el extremo 5' (figura 40-2).

Las proteínas virales se sintetizan en el citoplasma y la cantidad de cada producto génico corresponde a la concentración de los transcritos de mRNA de dicho gen. Las glucoproteínas virales se sintetizan y glucosilan en la vía secretoria.

El complejo proteína polimerasa viral (proteínas P y L) también se encarga de la replicación del genoma viral. Para lograr la síntesis satisfactoria de la plantilla intermedia de una cadena positiva antígenoma, el complejo polimerasa debe ignorar las señales de terminación interpuestas en los límites del gen. A continuación se copian genomas progenie de longitud completa a partir de la plantilla antígenoma.

El genoma no segmentado del paramixovirus niega la posibilidad de reorganizar el segmento del gen (es decir, rearrreglo genético) tan importante en la historia natural de los virus de la influenza. Las proteínas HN y F de la superficie del paramixovirus muestran mínima variación antigénica durante periodos prolongados. Es sorprendente que no sufran desviación antigénica como resultado de las mutaciones introducidas durante la replicación, ya que la RNA polimerasa es proclive al error. Una posible explicación es que casi todos los aminoácidos de la estructura primaria de las glucoproteínas del paramixovirus pueden tener actividad en la estructura o en la función y dejan poca oportunidad para sustituciones que no disminuyen de manera notable la viabilidad del virus.

C. Maduración

El virus madura por gemación en la superficie celular. Las nucleocápsides hijas se forman en el citoplasma y emigran a la superficie de la célula. Son atraídas a sitios sobre la mem-

brana plasmática tachonados con espículas de glucoproteína viral HN y F0. La proteína M es esencial para la formación de las partículas, probablemente sirve para enlazar la cubierta del virus a la nucleocápside. Durante la gemación la mayor parte de las proteínas del huésped son excluidas de la membrana.

La actividad de neuraminidasa de la proteína HN de los virus de la parainfluenza y de la parotiditis presuntamente funciona para prevenir la autoagregación de las partículas virales. Otros paramixovirus no poseen actividad de neuraminidasa (cuadro 40-2).

En presencia de la proteasa apropiada en la célula huésped las proteínas F0 de la membrana plasmática serán activadas para escindirse. La proteína de fusión activada produce entonces la fusión de las membranas celulares adyacentes y como resultado se forma un sincitio extenso (figura 40-5). La formación de sincitio es una respuesta común a la infección por paramixovirus. Regularmente se forman inclusiones citoplásmicas acidófilas (figura 40-5). Se estima que las inclusiones reflejan sitios de síntesis viral y se ha observado que contienen nucleocápsides y proteínas virales reconocibles. El virus del sarampión también produce inclusiones intranucleares (figura 40-5).

INFECCIONES POR VIRUS DE LA PARAINFLUENZA

Los virus de la parainfluenza son ubicuos y son causa de enfermedades respiratorias comunes en personas de todas las edades. Pueden ser los patógenos principales de enfer-

medad grave del aparato respiratorio en lactantes y niños pequeños; sólo el virus sincitial respiratorio es causa de mayor número de casos de enfermedad respiratoria grave en niños. Las reinfecciones con virus de influenza son comunes.

Patogenia y patología

La replicación del virus de parainfluenza en el huésped inmunocompetente al parecer está limitada al epitelio respiratorio. La viremia, si ocurre, es poco común. La infección puede afectar sólo a la nariz y la garganta, lo que da como resultado un síndrome inocuo de "resfriado común". Sin embargo, la infección puede ser más extensa, en particular con los tipos 1 y 2, y puede afectar la laringe y la tráquea superior, lo que da como resultado crup (laringotraqueobronquitis). El crup se caracteriza por obstrucción respiratoria debida a inflamación de la laringe y estructuras relacionadas. La infección se puede internar hasta la tráquea y los bronquios, y culminar en neumonía o bronquitis, en particular con el tipo 3, pero a una frecuencia mucho menor que la observada con el virus sincitial respiratorio.

La duración de la diseminación del virus de la parainfluenza es de alrededor de una semana después del inicio de la enfermedad; algunos niños podrían excretar virus varios días antes de la enfermedad. El tipo 3 puede ser excretado hasta cuatro semanas después del inicio de la enfermedad. Esta diseminación persistente desde los niños pequeños facilita la dispersión de la infección. La propagación viral prolongada podría presentarse en niños con función inmune comprometida y en adultos con enfermedad pulmonar crónica.

Cuadro 40-2. Características de los géneros en las subfamilias de la familia *Paramyxoviridae*

Propiedad	Paramyxoviridae ¹				Pneumovirinae	
	Respirovirus	Rubulavirus	Morbillivirus	Henipavirus ¹	Pneumovirus	Metapneumovirus
Virus humano	Parainfluenza 1, 3	Parotiditis, parainfluenza 2, 4a, 4b	Sarampión	Hendra, Nipah	Virus sincitial respiratorio	Metapneumovirus humano
Serotipos	Cada uno	Cada uno	1	?	2	?
Diámetro de la nucleocápside (nm)	18	18	18	?	13	13
Fusión de la membrana (proteína F)	+	+	+	+	+	+
Hemolisina ²	+	+	+	?	0	0
Hemaglutinina	+ ³	+ ³	+ ⁴	0	0	0
Hemadsorción	+	+	+	0	0	0
Neuraminidasa	+ ²	+ ³	0	0	0	0
Inclusiones ⁵	C	C	N, C	?	C	?

¹ Paramixovirus zoonóticos.

² Actividad de hemolisina realizada por la glucoproteína F.

³ Actividades de hemaglutinación y de neuraminidasa realizadas por la glucoproteína HN.

⁴ Sólo hemaglutinación de eritrocitos de mono por la glucoproteína H que carece de actividad de neuraminidasa.

⁵ C. citoplasma; N, núcleo.

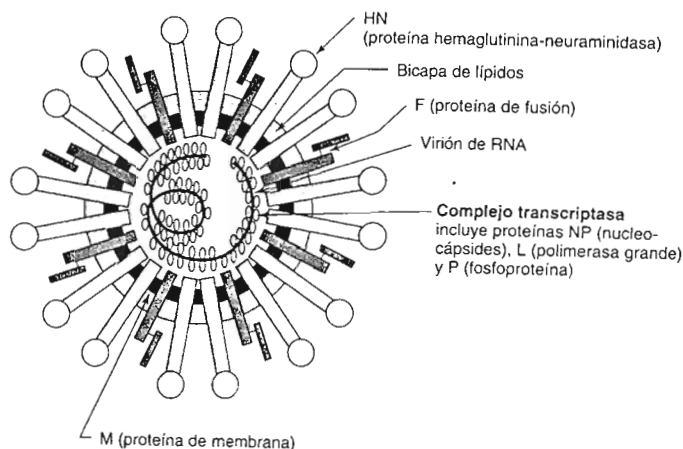


Figura 40-3. Diagrama de un paramixovirus que muestra los componentes principales (no dibujados a escala). Se muestra la bicapa de lípidos como un círculo concéntrico de color gris; subyacente a la bicapa de lípidos se encuentra la matriz de proteína viral (círculo concéntrico negro). Atravesando la membrana viral se encuentra la glucoproteína de unión neuraminidasa hemaglutinina (HN) y la glucoproteína de fusión (F). No todos los paramixovirus poseen actividades de hemaglutinina y neuraminidasa. Dentro del virus se encuentra el virión de RNA de cadena negativa encerrado en la proteína de la nucleocápside (NP). Acompañan a la nucleocápside las proteínas L y P, y en su conjunto este complejo posee una actividad de RNA transcriptasa dependiente del RNA. (Adaptado de Lamb RA, Kolafofsky D: *Paramyxoviridae: The viruses and their replication*. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

Los factores que determinan la gravedad de la enfermedad por virus de la parainfluenza no están claros, pero incluyen propiedades del virus y del huésped como la susceptibilidad de la proteína al corte por diferentes proteasas, la producción de una proteasa apropiada por las células huésped, el estado inmunitario del paciente y la hiperreactividad de las vías respiratorias.

La producción de anticuerpos IgE específicos del virus durante las infecciones primarias se ha relacionado con la gravedad de la enfermedad. El mecanismo podría estar relacionado con la liberación de mediadores de la inflamación con función alterada de vías respiratorias.

Datos clínicos

En el cuadro 30-4 se indica la importancia relativa de los virus de la parainfluenza como causa de enfermedad respiratoria en diferentes grupos de edad.

En niños pequeños la infección primaria generalmente provoca rinitis y faringitis, con frecuencia acompañadas de fiebre y bronquitis. Sin embargo, los niños con infección primaria por virus de la parainfluenza de los tipos 1, 2 o 3 pueden presentar enfermedad grave, la cual varía desde laringotraqueítis y crup (en particular con los tipos 1 y 2) hasta bronquiolitis y neumonía (sobre todo con el tipo 3). En lactantes menores de seis meses se presenta enfermedad grave relacionada principalmente con el tipo 3; es más probable el crup o laringotraqueobronquitis que se presente en niños mayores, entre las edades de 6 y 18 meses. Más de la mitad de las infecciones iniciales con virus de parainfluenza tipos 1

a 3 producen enfermedad febril. Se estima que sólo 2 a 3% terminan en crup. El virus de la parainfluenza tipo 4 no es causa de enfermedad grave, incluso en la primera infección.

La complicación más común de la infección por virus de parainfluenza es otitis media.

Los niños inmunocomprometidos y los adultos son susceptibles a infecciones graves. Las tasas de mortalidad después de la infección de parainfluenza en receptores de trasplante de médula ósea varían de 10 a 20%.

El virus de la enfermedad de Newcastle es un paramixovirus aviar que produce neuroencefalitis en pollos jóvenes e "influenza" en aves de mayor edad. En los humanos puede producir conjuntivitis. La recuperación es completa en 10 a 14 días. La infección en los humanos es una enfermedad ocupacional limitada a los trabajadores que manipulan aves infectadas.

Inmunidad

Los virus de la parainfluenza tipos 1 a 3 son serotipos distintos que carecen de neutralización cruzada importante (cuadro 40-2). Prácticamente todos los lactantes poseen anticuerpos maternos al virus de la parainfluenza en el suero, pero estos anticuerpos no evitan la infección o la enfermedad. En niños de mayor edad y en adultos puede presentarse la reinfección incluso en presencia de anticuerpos originados por una infección previa. Sin embargo, estos anticuerpos modifican la enfermedad puesto que dichas reinfecciones acostumbra presentarse sólo como infección respiratoria superior no febril (resfriado).

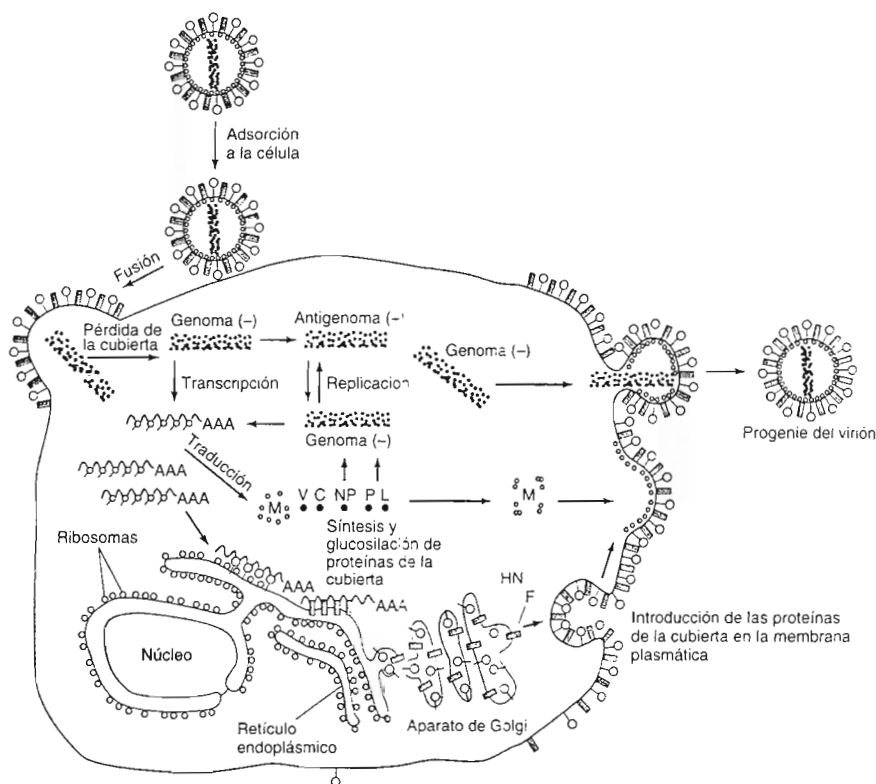


Figura 40-4. Ciclo de reproducción tipo de los paramixovirus. (Adaptado de Lamb RA, Kolakofsky D: *Paramyxoviridae: The viruses and their replication*. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

La infección natural estimula la aparición de anticuerpos IgA en las secreciones nasales y la resistencia concomitante a la reinfección. Los anticuerpos IgA secretorios son más importantes para suministrar protección contra la reinfección, pero desaparecen después de algunos meses. Así, las reinfecciones son comunes incluso en los adultos.

Los anticuerpos séricos están hechos para las proteínas de la superficie viral HN y F, pero se desconocen sus funciones relativas para determinar la resistencia. Cuando se presentan reinfecciones sucesivas, la respuesta del anticuerpo se vuelve menos específica como resultado de los determinantes antígenicos compartidos entre virus de parainfluenza y virus de paratoditis. Esto dificulta diagnosticar el paramixovirus relacionado con una infección determinada por medio de estudios serológicos.

Diagnóstico de laboratorio

La respuesta inmunitaria a la primera infección en la vida por virus de la parainfluenza es de tipo específico. Sin embargo,

con las infecciones repetidas la respuesta se hace cada vez más amplia y las reacciones cruzadas se extienden incluso al virus de la paratoditis. Los métodos de detección de antígenos son útiles para diagnóstico rápido. El diagnóstico definitivo se basa en el aislamiento del virus en las muestras apropiadas.

A. Detección del antígeno

Es común identificar directamente los antígenos virales en las muestras. Los antígenos pueden detectarse en las células nasofaríngeas exfoliadas mediante pruebas de inmunofluorescencia directa o indirecta. Estos métodos son rápidos, pero menos sensibles que el aislamiento del virus y deben ser cuidadosamente controlados. Cuando se desea identificar el serotipo específico son indispensables reactivos inmunitarios muy específicos.

B. Aislamiento e identificación del virus

Las muestras obtenidas de lavados nasales son buenas para el aislamiento del virus. También se ha utilizado líquido de lavado bronquioalveolar y tejido pulmonar. Las células nasales primarias de mono son las más sensibles para aislar

Figura 40-4. El ciclo de reproducción de un paramixovirus. (Adaptado de Lamb RA, Kolakofsky D: *Paramyxoviridae: The viruses and their replication*. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

los virus de la parainfluenza. Los anticuerpos IgA secretorios son más importantes para suministrar protección contra la reinfección, pero desaparecen después de algunos meses. Así, las reinfecciones son comunes incluso en los adultos.

Los anticuerpos séricos están hechos para las proteínas de la superficie viral HN y F, pero se desconocen sus funciones relativas para determinar la resistencia. Cuando se presentan reinfecciones sucesivas, la respuesta del anticuerpo se vuelve menos específica como resultado de los determinantes antígenicos compartidos entre virus de parainfluenza y virus de paratoditis. Esto dificulta diagnosticar el paramixovirus relacionado con una infección determinada por medio de estudios serológicos.

El diagnóstico de laboratorio. La respuesta inmunitaria a la primera infección en la vida por virus de la parainfluenza es de tipo específico. Sin embargo,

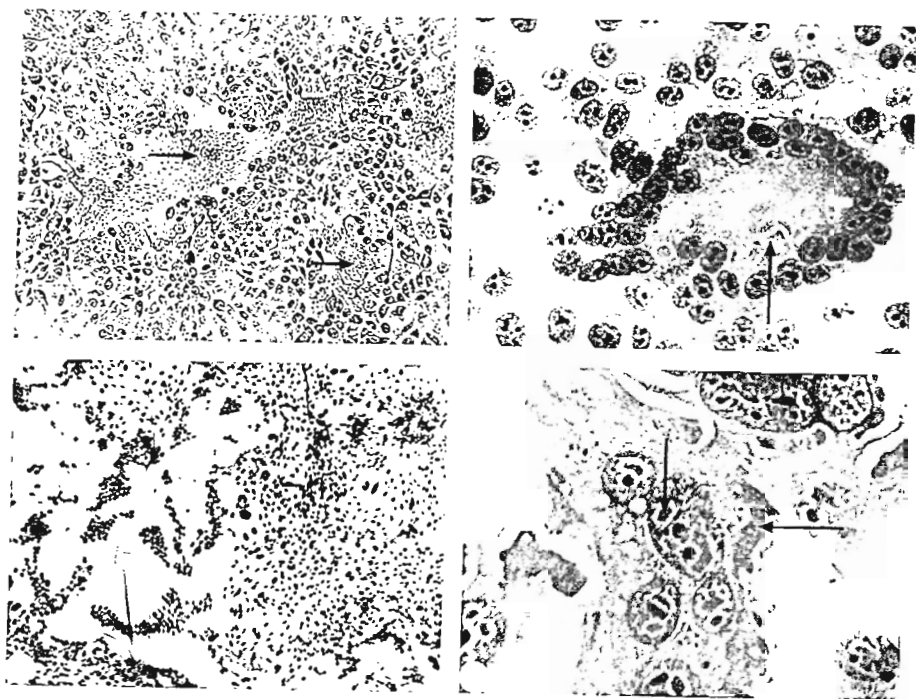


Figura 40-5. Formación sincitial inducida por los paramixovirus. **A:** virus sincitial respiratorio en células MA104 (no teñida, 100 x). El sincitio (flechas) resulta de la fusión de las membranas plasmáticas; los núcleos se acumulan en el centro. **B:** virus sincitial respiratorio en células HEP-2 (tinción H y E, 400 x). El sincitio contiene muchos núcleos e inclusiones citoplásmicas acidófilas (flecha). **C:** virus del sarampión en células de riñón humano (tinción H y E, 30 x). El enorme sincitio contiene cientos de núcleos. **D:** virus del sarampión en células de riñón humano (tinción H y E, 400 x). La célula gigante multinucleada contiene inclusiones nucleares acidófilas (flecha vertical) e inclusiones citoplásmicas (flecha horizontal). (Cortesía de I Jack; reproducido de White DO, Fenner FJ: *Medical Virology*, 3rd ed. Academic Press, 1986.)

los virus de la parainfluenza, pero son células difíciles de obtener. Una línea continua de células de riñón de mono, la LLC-MK₂, es una opción adecuada. Para aislar el virus con éxito es importante inocular con prontitud las muestras en el cultivo de células, puesto que la infectividad del virus decae con rapidez si la muestra clínica se almacena.

Para un diagnóstico rápido, las muestras se inoculan en células cultivadas en cubre objetos de viales especiales; después se centrifugan (30 min a 700 x g) y finalmente se incuban los cultivos. De 24 a 72 h después, las células son fijadas y se someten a pruebas de inmunofluorescencia utilizando anticuerpos monoclonales. Si se desea, se pueden utilizar reservorios (*pools*) de anticuerpos contra múltiples virus respiratorios, seguidos por la tipificación específica de muestras positivas con anticuerpos individuales.

Los virus de la parainfluenza crecen lentamente y producen muy pocos efectos citopáticos. La presencia del virus se detecta mediante hemadsorción con eritrocitos de caballo. Según la cantidad de virus, pueden requerirse 10 días o más de incubación antes que los cultivos sean positivos a la hemadsorción.

C. Serología

El serodiagnóstico debe basarse en muestras pareadas. La respuesta de anticuerpos puede cuantificarse mediante las pruebas de Nt, IH o ELISA. Un aumento de cuatro veces en el título indica infección con virus de la parainfluenza, así como la aparición del anticuerpo específico de IgM. Sin embargo, debido al problema de los antígenos compartidos, es imposible estar seguro acerca del cuál sea el tipo de virus específico implicado.

D. Detección de ácido nucleico

Las pruebas de la reacción en cadena de la polimerasa no son de uso común en este caso debido a las dificultades de detección de RNA en secreciones respiratorias. Los análisis de secuencia son útiles en estudios de epidemiología molecular de infecciones por virus de parainfluenza.

Epidemiología

El virus de la parainfluenza ocupa el segundo lugar, sólo después del virus sincitial respiratorio, como causa de infec-

ción respiratoria inferior en niños pequeños. El virus de la parainfluenza se distribuye ampliamente en todas las regiones geográficas. El tipo 3 es el más frecuente, con cerca de dos tercios de infantes infectados durante el primer año de vida; casi todos tienen anticuerpos para el tipo 3 a dos años de edad. Las infecciones con los tipos 1 y 2 se presentan con menos frecuencia, y alcanzan prevalencias de alrededor de 75 y 60%, respectivamente, a los cinco años de edad.

El tipo 3 es endémico, con cierto incremento durante la primavera, en tanto que los tipos 1 y 2 tienden a causar epidemias durante el otoño o el invierno, frecuentemente con un ciclo bianual.

Las reinfecciones son comunes durante la infancia y en los adultos, y producen enfermedades de la vía respiratoria superior. Según los informes, 67% de los niños se infectan de nuevo con parainfluenza tipo 3 durante el segundo año de vida. Las reinfecciones podrían requerir hospitalización de los adultos con enfermedades pulmonares crónicas (p. ej., asma).

Los virus de la parainfluenza se transmiten por contacto directo de persona a persona o por aerosoles de gotitas grandes. El tipo 1 se ha recuperado de muestras de aire tomadas en el entorno de pacientes infectados. Las infecciones se presentan por medio de la nariz y los ojos.

Los virus de la parainfluenza, por lo general, se introducen en grupos de niños en edad preescolar y luego se propagan con rapidez de persona a persona. El periodo de incubación al parecer es de cinco a seis días. El virus tipo 3, en especial, infecta a todas las personas susceptibles en una población semicerrada, como una familia o una guardería, en un tiempo breve. El virus de la parainfluenza es problemático porque es causa de infección nosocomial en las salas pediátricas de los hospitales. Otras situaciones de gran riesgo incluyen a las guarderías y las escuelas.

Tratamiento y prevención

Las precauciones de aislamiento para evitar el contacto son necesarias a fin de controlar los brotes nosocomiales del virus de la parainfluenza. Éstas son restricción de visitantes, aislamiento de pacientes infectados y uso de batas y aseo de manos por parte del personal médico.

El fármaco antiviral ribavirina se ha usado con cierto beneficio en el tratamiento de pacientes inmunocomprometidos con enfermedad de la vía respiratoria inferior. Están en etapa de prueba vacunas con subunidad y una vacuna de virus tipo 3 atenuado vivo que se administrarán de forma intranasal.

INFECCIONES POR EL VIRUS SINCITAL RESPIRATORIO

El virus sincital respiratorio es la causa más importante de enfermedad de vías respiratorias inferiores en lactantes y niños pequeños; generalmente supera a todos los otros patógenos microbianos como causa de bronquiolitis y de neumonía en lactantes menores de un año de edad. Se estima que representa aproximadamente 25% de las hospitalizaciones pediátricas por enfermedades respiratorias.

Patogenia y patología

La replicación del virus sincital respiratorio inicialmente tiene lugar en las células epiteliales de la nasofaringe. El virus se podría dispersar hacia el aparato respiratorio inferior y causar bronquiolitis y neumonía. Hay migración de linfocitos, lo que da como resultado infiltración peribronquial: los tejidos submucosos se vuelven edematosos, y los tapones, que consisten en moco, detritos celulares y fibrina, ocluyen los bronquiolos más pequeños. Los antígenos virales se detectan en la vía respiratoria superior y se vierten en las células epiteliales en los tapones, pero pocas veces se detectan en los bronquiolos pequeños. La viremia en acaso de que haya, tiene lugar rara vez.

El periodo de incubación entre exposición e inicio de la enfermedad es de 3 a 5 días. La diseminación viral podría persistir durante 1 a 3 semanas en infantes y niños jóvenes, en tanto que en los adultos dura sólo 1 a 2 días. Los títulos virales altos se presentan en secreciones del aparato respiratorio en niños jóvenes. El tamaño del inóculo es un determinante importante de la infección exitosa en adultos (y posiblemente en niños también).

Un sistema inmunitario intacto parece ser importante para librarse de la infección, puesto que los pacientes con deficiencia de la inmunidad mediada por células pueden padecer infección persistente por virus sincital respiratorio y propagar el virus durante meses.

Aunque en los lactantes de muy corta edad las vías respiratorias son estrechas y se obstruyen con facilidad por la inflamación y el edema, se desconoce por qué sólo un subconjunto de lactantes desarrolla enfermedad grave por el virus sincital respiratorio.

La posible implicación de la respuesta inmunitaria en la patogenia de algunos síntomas respiratorios por virus sincital, especialmente bronquiolitis, ha sido objeto de mucha especulación durante varios años. A fines del decenio de los 60 se probó una vacuna experimental de virus sincital respiratorio inactivada con formalina. A quienes se administró desarrollaron títulos elevados de anticuerpos en suero. Pero cuando los niños inmunizados se encontraron con una infección subsecuente con el tipo nativo de virus sincital respiratorio presentaron una enfermedad de vías respiratorias inferiores significativamente más grave que los niños del grupo control.

Datos clínicos

El espectro de la enfermedad respiratoria causada por virus sincital respiratorio varía desde la infección invidente o el resfriado común a neumonía en infantes hasta bronquiolitis en bebés muy pequeños. La bronquiolitis es el síndrome clínico distintivo relacionado con el virus. Cerca de un tercio de las infecciones respiratorias primarias por virus sincital afectan de manera grave el aparato respiratorio inferior por lo que se requiere atención médica. El niño podría respirar con dificultad. Casi 2% de los bebés infectados necesitan hospitalización, con la incidencia máxima a los dos meses de edad.

La evolución de los síntomas puede ser muy rápida y culminar con la muerte. Gracias a la atención pediátrica intensiva moderna la tasa de mortalidad en niños normales es

baja (alrededor de 1% en pacientes hospitalizados). Pero si la infección por virus sincitial respiratorio se superpone a una enfermedad preexistente, como cardiopatía congénita, la tasa de mortalidad puede aumentar.

La reinfección es común en niños y adultos. Aunque las reinfecciones tienden a ser sintomáticas, la enfermedad está limitada por lo general a la vía respiratoria superior, asemejándose a un resfriado en individuos saludables.

Las infecciones por virus sincitial respiratorio explican cerca de un tercio de las infecciones respiratorias en pacientes con trasplante de médula ósea. La neumonía se manifiesta en cerca de la mitad de niños y adultos inmunocomprometidos infectados, en particular si la infección tiene lugar al comienzo del período postrasplante. Las tasas de mortalidad varían de 20 a 80%.

Las infecciones en adultos mayores pueden causar síntomas similares a los de la enfermedad por virus de influenza. Puede presentarse neumonía. Las estimaciones de prevalencia del virus sincitial respiratorio en instalaciones de atención de largo plazo incluyen tasas de infección de 5 a 10%, neumonía en 10 a 20% de los infectados y tasas de mortalidad de 2 a 5%.

Los niños quienes padecen bronquiolitis y neumonía por virus sincitial respiratorio cuando son lactantes con frecuencia sufren anomalías de la función pulmonar durante muchos años. Sin embargo, no se ha demostrado una interrelación causa-efecto entre las infecciones por virus sincitial respiratorio y las anomalías a largo plazo. Puede ser que algunas personas posean ciertas alteraciones fisiológicas subyacentes que los predispongan a la infección grave por virus sincitial respiratorio y a las enfermedades de las vías aéreas.

El virus sincitial respiratorio es un agente etiológico importante de la otitis media. Se estima que de 30 a 50% de episodios de invierno en infantes podrían ser debido a infección por virus sincitial respiratorio.

Inmunidad

Las grandes concentraciones de anticuerpos neutralizantes transmitidos por vía materna y presentes durante los primeros meses de vida pueden ser decisivos en la inmunidad protectora contra la enfermedad del aparato respiratorio inferior. La enfermedad respiratoria sincitial grave aparece en lactantes desde los 2 a 4 meses de edad, cuando las concentraciones del anticuerpo materno disminuyen. Las tasas de incidencia descritas de las concentraciones protectoras de anticuerpos séricos neutralizantes ($\geq 1:512$) varían de 14 a 55%. Sin embargo, la infección primaria y la reinfección tiene lugar en presencia de anticuerpos virales. El anticuerpo sérico neutralizante al parecer tiene una correlación fuerte con la inmunidad contra la enfermedad del aparato respiratorio inferior pero no del superior.

El virus sincitial respiratorio no es inductor eficaz de interferón, al contrario de las infecciones por virus de la influenza y de la parainfluenza, en las cuales la concentración de interferón es grande y se correlaciona con la desaparición del virus.

En respuesta a la infección por virus sincitial respiratorio se elaboran tanto anticuerpos séricos como secretorios.

La infección primaria con un subgrupo induce anticuerpos de reacción cruzada para el virus del otro subgrupo (cuadro 40-2). Los infantes más jóvenes tienen menores respuestas de anticuerpos secretorios IgG e IgA para el virus sincitial respiratorio que los infantes mayores. No está claro si la IgA secretoria en las secreciones nasales participa en la protección contra reinfección. La inmunidad celular es importante en la recuperación de la infección.

Se ha observado una relación entre el anticuerpo IgE específico del virus y la gravedad de la enfermedad. Los anticuerpos IgE secretorios virales han sido correlacionados con la presencia de bronquiolitis. Es evidente que la inmunidad sólo es parcialmente eficaz y en condiciones naturales con frecuencia se ve superada: son comunes las reinfecciones, pero la gravedad de la enfermedad subsecuente es menor.

Diagnóstico de laboratorio

El aislamiento del virus y la detección de antígeno viral es las secreciones respiratorias son los procedimientos de elección para diagnosticar infección por virus sincitial respiratorio. El virus sincitial respiratorio difiere de otros paramixovirus en que no tiene una hemaglutinina, por tanto, en los métodos de diagnóstico no se pueden usar pruebas de hemaglutinación o hemadsorción.

A. Detección del antígeno

La identificación directa de los antígenos virales en muestras clínicas es rápida y sensible. Se puede emplear inmunofluorescencia en células exfoliadas o ELISA en secreciones nasofaríngeas. Un lavado o aspirado nasal es una buena fuente de virus. En los lavados nasales de niños pequeños están presentes grandes cantidades de virus (10^3 a 10^8 unidades formadoras de placa [UFP] por mililitro), pero está presente mucho menos en muestras de adultos (< 100 UFP/mL). Los equipos para la prueba ELISA son útiles para diagnóstico rápido, que es deseable porque se cuenta con terapia antiviral.

B. Aislamiento e identificación del virus

El virus sincitial respiratorio se puede aislar de secreciones nasales. Es extremadamente lábil. Las muestras deben inocularse de inmediato en cultivo de células; congelar las muestras clínicas puede dar lugar a la pérdida completa de la infectividad.

Las líneas de células humanas heteroploides HeLa y Hep-2 son las más sensibles para aislar el virus. La presencia del virus sincitial respiratorio comúnmente se puede identificar por el desarrollo de células gigantes y sincitios en los cultivos inoculados (figura 40-5). Los efectos citopáticos pueden tardar hasta 10 días en aparecer. El diagnóstico definitivo se establece al detectar el antígeno viral en las células infectadas mediante un antisero definido y la prueba de inmunofluorescencia. El aislamiento rápido del virus sincitial respiratorio se puede obtener al inocular cultivos celulares en cubre objetos y detectar por inmunofluorescencia.

La detección del virus sincitial respiratorio es la evidencia de la participación de este virus en la enfermedad presente, puesto que casi nunca se encuentra en personas sanas.

C. Serología

Se pueden analizar los anticuerpos séricos de varias maneras: inmunofluorescencia, ELISA y pruebas de Nt. Las mediciones en suero de los anticuerpos son importantes para los estudios epidemiológicos, pero sólo desempeñan una función menor en la toma de decisiones clínicas.

D. Detección de ácido nuclear

Las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa son útiles para subtipificar aislados de virus sincital respiratorio y para el análisis de variación genética en epidemias.

Epidemiología

El virus sincital respiratorio se distribuye por todo el mundo y se le reconoce como el principal patógeno de las infecciones respiratorias pediátricas. Alrededor de 70% de los niños se infectan al año de edad y casi todos a los dos años de edad. La bronquiolitis grave o la neumonía son las enfermedades que se presentan con mayor frecuencia en los lactantes entre las edades de 6 semanas y 6 meses, con incidencia máxima a los dos meses. El virus se puede aislar de casi la mayoría de los lactantes menores de seis meses afectados por bronquiolitis pero casi nunca se aísla de lactantes sanos. Al parecer las infecciones del subgrupo A causan enfermedad más grave que las infecciones del subgrupo B. El virus sincital respiratorio es la causa más común de neumonía viral en niños menores de cinco años de edad pero también podrían causar neumonía en los adultos mayores o en personas inmunocomprometidas. La infección por virus sincital respiratorio en lactantes mayores y niños produce infección más leve de vías respiratorias, en comparación con los niños menores de seis meses de edad.

El virus sincital respiratorio se disemina mediante gotas grandes y contacto directo. Aunque el virus es muy lábil, sobrevive en superficies ambientales por hasta 6 h. La puerta principal de entrada en el huésped es por la nariz y los ojos.

Es frecuente la reinfección (a pesar de la presencia de anticuerpos específicos), pero los síntomas resultantes son los de una infección leve de vías respiratorias superiores (un catarro). En las familias con un caso identificado de infección respiratoria sincital es común la propagación del virus a hermanos y adultos.

Cada año, durante la época invernal, el virus sincital respiratorio ataca principalmente a los niños. Aunque el virus persiste durante los meses de verano, los brotes tienden a ser máximos en febrero o marzo en el hemisferio norte. En regiones tropicales las epidemias del virus sincital respiratorio pueden coincidir con la época de lluvias.

El virus sincital respiratorio es causa de infecciones nosocomiales en guarderías y salas pediátricas de los hospitales. La transmisión tiene lugar principalmente a través de las manos del personal del hospital.

Tratamiento y prevención

El tratamiento de una infección grave por virus sincital respiratorio depende principalmente de cuidados de apoyo (p. ej., retirar secreciones, administrar oxígeno). El fármaco

antiviral ribavirina se aprobó para tratamiento de la enfermedad del aparato respiratorio debida al virus sincital, en particular en infantes con alto riesgo de enfermedad grave. Los fármacos se administran en aerosol durante 3 a 6 días. La ribavirina oral no es útil.

La administración de inmunoglobulina con títulos altos de anticuerpos contra el virus sincital respiratorio es de beneficio marginal. Ya se están desarrollando anticuerpos monoclonales antivirales de humano.

Mucho esfuerzo de investigación se ha dedicado a intentar desarrollar una vacuna contra el virus sincital respiratorio. La enfermedad intensificada por la vacuna que tuvo lugar en el decenio de 1960-69 después de la inmunización con vacuna de virus sincital respiratorio inactivado ha obstaculizado el desarrollo de la vacuna debido a que se desconoce la base de los efectos secundarios. Los intentos de obtener una vacuna de virus vivo atenuado no han sido exitosos.

El virus sincital respiratorio plantea problemas especiales para el desarrollo de vacunas. Los recién nacidos, el grupo al cual estaría dirigida la vacuna, tendrían que ser inmunizados poco después del nacimiento para protegerlos en el momento de mayor riesgo de la infección por virus sincital respiratorio y obtener una respuesta inmune protectora, a esta edad temprana es difícil en presencia de anticuerpos maternos. Una estrategia que está siendo probada es la inmunización materna con una vacuna. El objetivo es asegurar la transferencia de niveles protectores de anticuerpo neutralizante específico del virus para infantes que persistirían durante 3 a 5 meses, el período de mayor vulnerabilidad de recién nacidos para enfermedad grave por virus sincital respiratorio.

Las medidas de control necesarias cuando se presentan epidemias nosocomiales son las mismas que se describieron para los virus de parainfluenza (aislamiento de contacto, lavado de manos y restricción de visitas).

INFECCIONES POR METAPNEUMOVIRUS HUMANO

El metapneumovirus humano es un patógeno respiratorio descrito primero en 2001 (cuadro 40-2). Se detectó por medio de un método molecular (reacción en cadena de la polimerasa) en niños con enfermedad respiratoria grave pero con resultados negativos de prueba viral. Al parecer está ampliamente diseminado, con 100% de seroprevalencia en adultos jóvenes y personas mayores. El metapneumovirus humano puede causar una amplia variedad de enfermedades respiratorias, desde síntomas respiratorios leves del aparato superior hasta enfermedad grave del inferior. En general los síntomas son similares a los que causa el virus sincital respiratorio.

INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA PAROTIDITIS

La parotiditis es una enfermedad contagiosa aguda caracterizada por aumento del volumen sin supuración de una o ambas glándulas parótidas. El virus de la parotiditis caus

más que nada una enfermedad infantil leve, pero en los adultos las complicaciones como meningitis y otitis son bastante comunes. Más de una tercera parte de todas las parotiditis infecciosas son asintomáticas.

Patogenia y patología

El humano es el único huésped natural del virus de la parotiditis. La replicación primaria tiene lugar en las células epiteliales de las vías respiratorias superiores o nasales. A continuación, la viremia disemina el virus a las glándulas salivales y otros órganos sistémicos importantes. La afectación de la glándula parótida no es un paso indispensable en el proceso infeccioso.

El período de incubación puede variar de 2 a 4 semanas, pero típicamente es de 16 a 18 días. El virus se elimina por la saliva desde dos días antes hasta 9 días después de iniciada la inflamación de la glándula salival. Alrededor de una tercera parte de las personas infectadas no muestran síntomas evidentes (infección inaparente), pero tienen la misma capacidad para transmitir la infección. Es difícil controlar la transmisión de la parotiditis debido al período de incubación variable, a la presencia de virus en la saliva antes que se desarrollen los síntomas clínicos, y a un gran número de casos asintomáticos pero infectantes.

La parotiditis es una enfermedad viral sistémica con tendencia a reproducirse en células epiteliales de diferentes órganos viscerales. El virus infecta con frecuencia los riñones y se puede detectar en la orina de la mayoría de los pacientes. Los virus en la orina pueden persistir hasta 14 días después de iniciados los síntomas clínicos. Comúnmente también el sistema nervioso central está infectado y puede estar afectado en ausencia de parotiditis.

Datos clínicos

Las características clínicas de la parotiditis reflejan la patogenia de la infección. Al menos un tercio de las infecciones por parotiditis son subclínicas, incluso la mayor parte de las infecciones en niños menores de dos años de edad. El rasgo más característico de los casos sintomáticos es la inflamación de las glándulas salivales, observada en casi 50% de los pacientes.

A un período prodromático de malestar y anorexia sigue una inflamación rápida de las glándulas parótidas y de otras glándulas salivales. La inflamación puede confinarse a una sola glándula parótida, o una glándula puede crecer durante varios días antes que la otra. El aumento del volumen glandular se acompaña de dolor.

La participación del sistema nervioso central es común (10 a 30% de los casos). Las parotiditis causan meningitis aséptica y es más común entre varones que entre mujeres. La meningoencefalitis ocurre por lo común 5 a 7 días después de la inflamación de las glándulas salivales, pero hasta la mitad de los pacientes no tendrá evidencia clínica de parotiditis. La meningitis se presenta en hasta 15% de los casos y la encefalitis en menos de 0.3%. Los casos de meningitis y meningoencefalitis por parotiditis desaparecen por lo general sin dejar secuelas, aunque en alrededor de 5:100 000

casos se presenta sordera unilateral. La tasa de mortalidad de la encefalitis por parotiditis se aproxima a 1%.

Es posible que resulten afectados testículos y ovarios, en particular después de la pubertad. De 20 a 50% de los varones que se infectan con el virus de la parotiditis presentan orquitis (a menudo unilateral). Debido a la falta de elasticidad de la túnica albugínea, que no permite que los testículos inflamados se distiendan, la complicación es muy dolorosa. La atrofia de los testículos podría presentarse como resultado de necrosis por presión, pero sólo rara vez resulta esterilidad. La ooforitis por parotiditis se presenta en casi 5% de las mujeres. La pancreatitis se presenta en casi 4% de los casos.

Inmunidad

La inmunidad es permanente después de una sola infección. Sólo existe un tipo antigénico del virus de la parotiditis y no muestra variación antigénica significativa (cuadro 40-2).

Luego de la infección natural se desarrollan anticuerpos a la glucoproteína HN (antígeno V), a la glucoproteína F y a la proteína interna de la nucleocápside (antígeno S) en el suero. Los anticuerpos al antígeno S aparecen más temprano (3 a 7 días después de iniciados los síntomas clínicos), pero son transitorios y en general desaparecen antes de seis meses. Los anticuerpos al antígeno V se desarrollan con mayor lentitud (casi cuatro semanas después del inicio de la enfermedad) pero persisten durante años.

Los anticuerpos contra el antígeno HN se correlacionan bien con la inmunidad. Incluso las infecciones subclínicas se estima que generan inmunidad para toda la vida. También se desarrolla respuesta inmunitaria mediada por células. Desde el principio de la parotiditis infecciosa se induce interferón. En individuos inmunes, los anticuerpos IgA secretados en la nasofaringe muestran actividad neutralizante.

La madre transfiere al hijo inmunidad pasiva: por tanto, es raro observar parotiditis en lactantes menores de seis meses de edad.

Diagnóstico de laboratorio

En casos típicos, generalmente no se requieren estudios de laboratorio para establecer el diagnóstico. Sin embargo, en ocasiones la parotiditis puede confundirse con hipertrofia de las parótidas debido a supuración, sensibilidad a fármacos, tumores, etc. En los casos sin parotiditis (en particular de meningitis aséptica), el laboratorio puede ser útil para establecer el diagnóstico.

A. Aislamiento e identificación del virus

Las muestras clínicas más apropiadas para aislar el virus son saliva, líquido cefalorraquídeo y orina recolectada pocos días después de iniciada la enfermedad. El virus puede recuperarse de la orina hasta por dos semanas.

Las células de riñón de mono son las preferidas para aislar el virus. Las muestras deben inocularse poco después de la recolección, puesto que el virus de la parotiditis es termolábil. Para un diagnóstico más rápido, la inmunofluorescencia con antisuero contra parotiditis específico puede detectar antígenos del virus de la parotiditis desde 2 a 3 días

después de la inoculación del cultivo de células en viales especiales.

En los sistemas de cultivo tradicionales, el efecto citopático típico del virus de la parotiditis consiste en la formación de células gigantes y de células redondas. Como no todos los aislamientos primarios muestran la formación sincicial característica, se puede emplear la prueba de hemadsorción para demostrar la presencia de un agente hemadsorbente. 1 y 2 semanas después de la inoculación. Un virus aislado se puede confirmar como parotiditis por inhibición de la hemadsorción mediante antisero parotiditis específico.

B. Serología

El aumento de los anticuerpos se puede detectar con pares de muestras de suero: un aumento de cuatro veces o mayor en el título de anticuerpos es evidencia de parotiditis infecciosa. Comúnmente se emplean las pruebas de ELISA o de IH.

La prueba ELISA es útil debido a que se puede diseñar para detectar anticuerpos IgM o IgG específicos a parotiditis. La IgM de la parotiditis está uniformemente presente desde el principio de la enfermedad y raras veces dura más de 60 días. Por tanto, la demostración de IgM específica de la parotiditis en el suero extraído al principio de la enfermedad sugiere fuertemente una infección reciente. Los anticuerpos heterotípicos inducidos por las infecciones del virus de la parainfluenza no reaccionan de manera cruzada con la IgM de la parotiditis en la prueba ELISA.

Epidemiología

La parotiditis es endémica en todo el mundo. Los casos se presentan todo el año en climas cálidos y alcanzan el máximo en invierno y primavera en climas templados. Cuando el hacinamiento favorece la diseminación del virus se presentan brotes. La parotiditis es una infección principalmente de niños. La enfermedad alcanza su mayor incidencia en niños entre 5 a 15 años de edad, pero pueden presentarse epidemias en los cuarteles. En los niños menores de cinco años de edad, la enfermedad comúnmente causa infección de vías respiratorias superiores sin parotiditis.

La parotiditis es muy contagiosa: las personas más susceptibles en un hogar contraen la infección a partir de un miembro infectado de la familia. El virus se transmite por contacto directo, gotas de secreción respiratoria en el aire, o fomites contaminados con saliva u orina. El período de transmisibilidad es de casi 2 días antes a casi nueve días después del inicio de los síntomas. Sin embargo, se requiere un contacto más estrecho para la transmisión de la parotiditis que para la transmisión del sarampión o de la varicela.

Alrededor de una tercera parte de las infecciones con virus de la parotiditis es inaparente. En el curso de la infección inaparente el paciente puede transmitir el virus a los demás. Las personas con parotiditis subclínica adquieren inmunidad.

La tasa general de mortalidad por parotiditis es baja (1 a 3.8 muertes por 10 000 casos en EUA), la mayoría, por encefalitis.

La incidencia de parotiditis y de complicaciones concomitantes declinaron notablemente a partir de la introducción de la vacuna con virus vivo.

Tratamiento, prevención y control

No hay un tratamiento específico.

La inmunización con vacuna de virus de la parotiditis vivos atenuados es el mejor criterio para reducir la morbilidad y las tasas de mortalidad relacionadas con la parotiditis. Los intentos de reducir al mínimo la propagación viral durante un brote mediante procedimientos de aislamiento son inútiles, debido a la gran incidencia de casos asintomáticos y al grado de propagación viral antes de que aparezcan los síntomas clínicos.

Se dispone de una vacuna eficaz de virus vivos atenuados elaborada en cultivo de células de embrión de pollo. Produce infección subclínica no transmisible.

La vacuna contra parotiditis está disponible en combinaciones con sarampión y rubéola (MMR). La combinación de vacunas con virus vivos produce anticuerpos para cada uno de los virus en casi 95% de las personas vacunadas. No existe un mayor riesgo de meningitis aséptica después de la vacunación MMR.

En 1967, año en que se autorizó la vacuna contra parotiditis, se presentaron casi 200 000 casos de parotiditis (y 900 pacientes con encefalitis) en EUA. En 1999, se registraron sólo 387 casos de parotiditis.

INFECCIONES POR VIRUS DEL SARAMPIÓN

El sarampión es una enfermedad aguda y muy infectante, caracterizada por *rash* maculopapular, fiebre y síntomas respiratorios. Son comunes las complicaciones pueden ser muy graves. La introducción de una vacuna eficaz a base de virus vivos redujo de manera espectacular la incidencia de esta enfermedad en EUA, pero en los países en desarrollo el sarampión aún es causa importante de muerte en niños pequeños. Es motivo de gran preocupación que en EUA un porcentaje significativo de niños en edad preescolar son susceptibles al sarampión por falta de vacunación.

Patogenia y patología

El humano es el único huésped natural del virus del sarampión, aunque un gran número de otras especies, las cuales incluyen monos, perros y ratones, pueden ser infectadas en condiciones experimentales. En la figura 40-6 se presenta la historia natural de la infección por el virus del sarampión.

El virus tiene acceso al cuerpo humano a través del aparato respiratorio, donde se multiplica localmente; a continuación la infección se disemina al tejido linfático regional con multiplicación adicional. La viremia primaria disemina el virus que entonces se replica en el sistema reticuloendotelial. Por último, una viremia secundaria siembra el virus en las superficies epiteliales del cuerpo, incluso piel; aparato respiratorio y conjuntiva, donde tiene lugar replicación focal. El virus del sarampión puede reproducirse en ciertos linfocitos, lo que ayuda a diseminarlo. En los tejidos linfoides de todo el cuerpo (ganglios linfáticos, amígdalas, apéndice) se observan células gigantes multinucleadas con

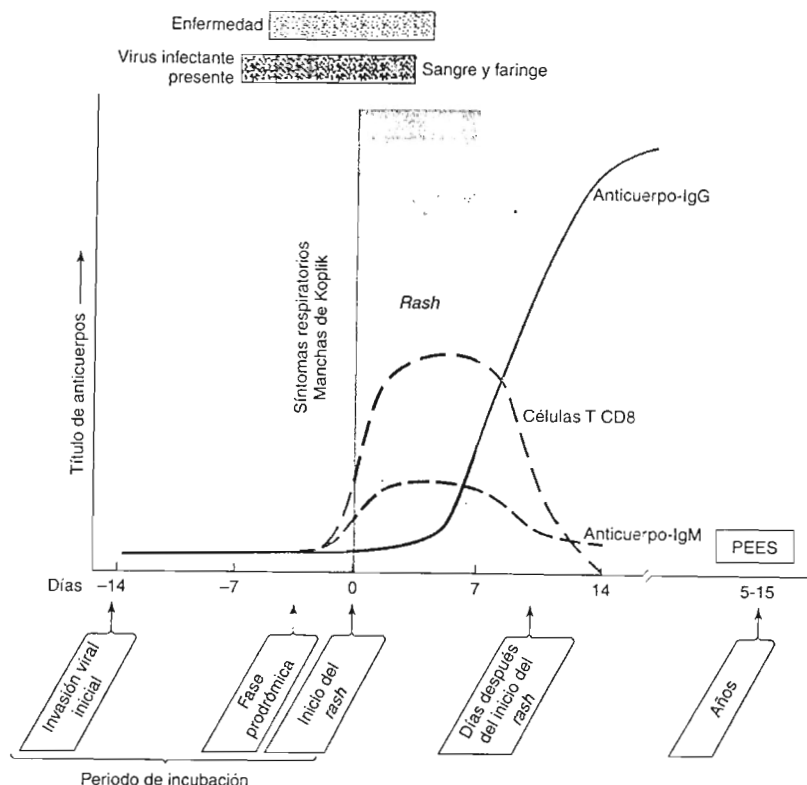


Figura 40-6. Historia natural de la infección por el virus del sarampión. La replicación viral se inicia en el epitelio respiratorio y se disemina a monocitos-macrófagos, células endoteliales y células epiteliales en la sangre, bazo, ganglios linfáticos, pulmón, timo, hígado y piel, y a las superficies mucosas de los aparatos gastrointestinal, respiratorio y genitourinario. Cuando aparece el rash puede detectarse la respuesta inmunitaria específica al virus. La depuración del virus coincide de manera aproximada con la desaparición del rash (PEES, panencefalitis esclerosante subaguda).

inclusiones intranucleares. Estos eventos acontecen en el período de incubación que característicamente dura 8 a 12 días, pero puede durar hasta tres semanas en adultos.

Durante la fase prodrómica (2 a 4 días) y los primeros 2 a 5 días de exantema, el virus está presente en las lágrimas, secreciones de la nariz y garganta, orina y sangre. El rash maculopapular característico aparece alrededor del día 14, en el momento que los anticuerpos circulantes se hacen detectables, la viremia desaparece y la fiebre disminuye. El rash se desarrolla como resultado de la interacción entre las células inmunitarias T con las células infectadas por el virus en los vasos sanguíneos de pequeño calibre y dura casi una semana. (En los pacientes con inmunidad defectuosa mediada por células, no aparece el rash.)

En el sarampión es común la afección del sistema nervioso central (figura 40-7). En casi 1:1 000 casos se desarrolla encefalitis sintomática. Puesto que raras veces se

recupera del cerebro el virus infectante, se sugiere que el mecanismo causante de esta complicación es una reacción autoinmunitaria. Por el contrario, en los pacientes con defectos de la inmunidad mediada por células se puede desarrollar encefalitis progresiva con cuerpos de inclusión. En esta variante por lo general mortal de la enfermedad se encuentran virus que se reproducen activamente en el cerebro.

La panencefalitis esclerosante subaguda es una rara complicación tardía del sarampión. Esta enfermedad mortal se desarrolla años después de la infección inicial por sarampión y se debe a los virus que permanecen en el cuerpo después de la infección aguda. En las células cerebrales infectadas se encuentra una gran cantidad de antígenos del sarampión dentro de los cuerpos de inclusión, pero sólo unas cuantas partículas virales maduran. La reproducción viral es defectuosa por falta de producción de uno o más productos génicos virales, casi siempre la proteína de la matriz.

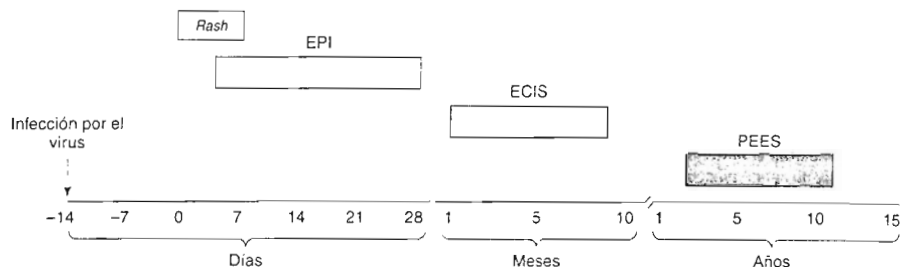


Figura 40-7. Historia natural de las complicaciones neurológicas del sarampión. EPI, encefalomiелitis posinfecciosa; ECIS (denominada también encefalomiелitis diseminada aguda) encefalitis por cuerpos de inclusión del sarampión; PEES, panencefalitis esclerosante subaguda. La encefalitis se presenta en casi 1 de cada 1 000 casos de sarampión, en tanto que la panencefalitis esclerosante subaguda es una complicación tardía rara que se desarrolla en alrededor de uno por cada millón de casos. (Adaptado de Griffin DE, Bellini WJ: Measles virus. In: *Fields Virology*, 3ra ed. Fields BN et al. [editores]. Lippincott-Raven, 1996.)

Datos clínicos

Las infecciones en huéspedes no inmunes casi siempre son sintomáticas. Después de un periodo de incubación de 8 a 12 días, el sarampión es una enfermedad que típicamente dura 7 a 11 días (con una fase prodrómica de 2 a 4 días seguida por una fase eruptiva de 5 a 8 días).

La fase prodrómica se caracteriza por fiebre, estornudos, tos, secreción nasal, congestión ocular, manchas de Koplik y linfopenia. La tos y la coriza reflejan una reacción inflamatoria intensa que tiene que ver con la mucosa del aparato respiratorio. La conjuntivitis comúnmente se acompaña de fotofobia. Las manchas de Koplik —patognomónicas de sarampión— son ulceraciones blancas azuladas muy pequeñas localizadas en la mucosa bucal, opuestas a los molares inferiores. Estos puntos contienen células gigantes y antígenos virales y aparecen aproximadamente dos días antes del exantema (*rash*). La fiebre y la tos persisten en tanto el *rash* aparece y después ceden en 1 a 2 días. El *rash*, que se inicia en la cabeza y después progresivamente se propaga a tórax, tronco y extremidades, se presenta como maculopápulas discretas de color rosa pálido, que confluyen para formar manchas, y en 5 a 10 días adquieren color marrón. La erupción declina y se resuelve con descamación. Los síntomas son más notables cuando el *rash* se encuentra en su máximo, pero a partir de entonces desaparecen con rapidez.

El sarampión modificado aparece en las personas parcialmente inmunes, como los lactantes, con anticuerpos maternos residuales. El periodo de incubación se prolonga y los síntomas prodrómicos son menores, por lo general las manchas de Koplik están ausentes y el *rash* es leve.

La complicación más común del sarampión es la otitis media (5 a 9% de los casos).

La neumonía es la complicación más común del sarampión que pone en riesgo la vida, causada por infecciones bacterianas secundarias. Esto tiene lugar en menos de 10% de los casos en países desarrollados, pero es mucho más frecuente (20 a 80%) en países en desarrollo. Las complicaciones pulmonares explican más de 90% de las muertes relacionadas con sarampión. La neumonía aparece en 3 a 15% de los adultos con sarampión, pero la mayor parte de los casos se deben al virus mismo y no a la bacteria. Las muertes son raras.

La neumonía de células gigantes es una complicación grave en niños y adultos con deficiencias en la inmunidad mediada por células. Se cree que se debe a la duplicación viral irrestricta y tiene una tasa de mortalidad alta.

Las complicaciones que afectan al sistema nervioso central son las más temidas. Casi 50% de los niños con sarampión común registra cambios electroencefalográficos. La encefalitis aguda se presenta en alrededor de 1:1 000 casos. No hay una correlación aparente entre la gravedad del sarampión y la aparición de las complicaciones neurológicas. La encefalomiелitis posinfecciosa es una enfermedad autoinmunitaria vinculada con una respuesta inmunitaria a la proteína básica de la mielina. En la encefalitis vinculada con el sarampión la tasa de mortalidad es de aproximadamente de 10 a 20%. La mayor parte de los supervivientes tienen secuelas neurológicas.

La panencefalitis esclerosante subaguda es una complicación tardía rara de la infección por sarampión, muestra una incidencia de 1:300 000 casos. La enfermedad comienza de manera insidiosa de 5 a 15 años después de un caso de sarampión; se caracteriza por deterioro mental progresivo, movimientos involuntarios, rigidez muscular y coma. Los pacientes con panencefalitis esclerosante subaguda muestran títulos altos de anticuerpo contra sarampión en el líquido cefalorraquídeo, y suero y virus sarampión defectuosos en las células cerebrales. Con la aplicación extensa de la vacuna antisarampión, la panencefalitis esclerosante subaguda cada vez es menos común.

Inmunidad

Sólo existe un tipo antigénico de virus del sarampión (cuadro 40-2). La infección confiere inmunidad por toda la vida. La mayor parte de los llamados segundos ataques representan un error en el diagnóstico de la enfermedad inicial o de la segunda.

La presencia de anticuerpos indica inmunidad humoral. Sin embargo, la inmunidad celular también puede ser relevante en el restablecimiento y en la protección; los pacientes con deficiencias en inmunoglobulinas se recuperan del sarampión y resisten la infección, en tanto que los pacientes con inmunidad celular deficiente reaccionan escasamente cuando contraen el sarampión.

Es incierta la función de la inmunidad de las mucosas en la resistencia a las infecciones.

Las respuestas inmunes del sarampión están relacionadas con la patogénesis de la enfermedad. La inflamación local causada por los síntomas prodrómicos, y la inmunidad específica mediada por células desempeña una función en el desarrollo de *rash*.

La infección de sarampión causa supresión inmune, sobre todo en el brazo del sistema inmune mediado por células, pero se ve que afecta a todos los componentes. Ésta es la causa de las infecciones secundarias graves y podría persistir durante meses después de la infección de sarampión.

Diagnóstico de laboratorio

El sarampión clásico puede diagnosticarse de manera precisa en la clínica; en los casos de sarampión modificado o atípico a veces se requiere el diagnóstico de laboratorio.

A. Detección de antígeno

Los antígenos de sarampión se detectan en las células epiteliales en secreciones respiratorias y orina. Los anticuerpos para la nucleoproteína son útiles debido a que es la proteína viral más abundante en células infectadas.

B. Aislamiento e identificación del virus

Las muestras nasofaríngeas y conjuntivales, muestras de sangre, secreciones respiratorias y orina recolectadas de un paciente durante el período febril son las fuentes más apropiadas para aislamiento del virus. Las células de riñón de mono o humano, o las células HEp-2, o las células linfoblastoides en línea (B95-a) son óptimas para intentar el aislamiento. El virus del sarampión crece con lentitud; los efectos citopáticos típicos (células gigantes multinucleadas que contienen cuerpos de inclusión intranucleares e intracitoplásmicos) toman de 7 a 10 días para desarrollarse (figura 40-5). Las pruebas de cultivo en viales cilíndricos se completan en 2 a 3 días por medio de tinción de anticuerpos fluorescentes para detectar antígenos de sarampión en cultivos inoculados. Sin embargo, el aislamiento del virus es difícil desde el punto de vista técnico.

C. Serología

La confirmación serológica de la infección por sarampión depende de un aumento de cuatro veces en el título de los anticuerpos en el suero entre las fases aguda y de convalecencia, o de la demostración de anticuerpo IgM específico del sarampión en una sola muestra de suero extraída entre 1 y 2 semanas después de iniciado el *rash*. Las pruebas de IH, ELISA y de NI pueden emplearse para medir anticuerpos al sarampión, aunque el método más práctico es el de ELISA.

La parte principal de la respuesta inmunitaria se dirige contra la nucleoproteína viral. Los pacientes con panencefalitis esclerosante subaguda muestran respuesta excesiva de anticuerpo, con títulos 10 a 100 veces mayores que los observados en el suero de convaleciente típico.

Epidemiología

Las características epidemiológicas clave del sarampión son las siguientes: el virus es muy contagioso, sólo existe un se-

rotipo, no se conoce reservorio animal, las infecciones inaparentes son raras y la infección confiere inmunidad para toda la vida. La prevalencia y la edad de incidencia del sarampión se interrelacionan con la densidad de población, factores económicos y ambientales, y el empleo de una vacuna eficaz de virus vivos.

La transmisión tiene lugar sobre todo vía la ruta respiratoria (por inhalación de gotas grandes de secreciones infectadas). Los fomites al parecer no desempeñan una función importante en la transmisión. La transmisión transplacentaria hematogénica puede tener lugar cuando el sarampión se presenta durante el embarazo.

Para que el virus persista en una comunidad se requiere un suministro continuo de personas susceptibles. Se requiere una población de aproximadamente 500 000 personas para mantener el sarampión como enfermedad endémica; en comunidades más pequeñas el virus desaparece hasta que es reintroducido del exterior después de que se acumula un número crítico de personas no inmunes.

El sarampión es endémico en todo el mundo. En general, las epidemias recidivan de manera regular cada 2 a 3 años. El estado de inmunidad en la población es el factor determinante; la enfermedad ataca cuando se acumula un cierto número de niños susceptibles. Cuando la enfermedad se introduce en comunidades aisladas donde no ha sido endémica, se desarrolla con rapidez una epidemia y el índice de ataque es de casi 100%. Todos los grupos de edad desarrollan sarampión clínico y la tasa de mortalidad puede ser hasta de 25%.

En los países industrializados el sarampión se presenta en niños de 5 a 10 años de edad, en tanto que en los países en desarrollo infecta comúnmente a niños menores de cinco años. El sarampión rara vez es mortal en personas sanas de países desarrollados. Sin embargo, en infantes con nutrición deficiente de países en vías de desarrollo, donde carecen de la atención médica adecuada, el sarampión es una de las principales causas de mortalidad infantil. En el año 2000 causó cerca de 800 000 muertes, la quinta causa mundial principal de mortalidad entre niños menores de cinco años de edad. Las muertes por sarampión se presentan de manera desproporcionada en África y el sudeste de Asia.

Los casos de sarampión se presentan durante todo el año en los climas templados. Las epidemias tienden a presentarse al final del invierno y principio de la primavera.

Tratamiento, prevención y control

El tratamiento con vitamina A en países en desarrollo ha disminuido la mortalidad y la morbilidad. El virus del sarampión también es susceptible de ser inhibido por ribavirina *in vitro*, pero no hay pruebas clínicas que demuestren su eficacia.

Se dispone de una vacuna segura y sumamente eficaz con virus del sarampión vivos atenuados. La vacuna de sarampión está disponible en forma monovalente y en combinación con la vacuna de rubéola atenuada viva (MR) y vacunas atenuadas vivas de parotiditis y rubéola (MMR). Sin embargo, debido al fracaso para vacunar a los niños y a los casos de falla de la vacuna poco frecuentes, no se ha eliminado el sarampión. La vacuna ha reducido el sarampión nativo en EUA desde niveles de prevacuna de más de 500 000 casos al año hasta sólo 116 casos en 2001.

Las reacciones clínicas leves (fiebre o *rash* leve) aparecen en 2 a 5% de los vacunados, pero la excreción del virus es escasa o nula y no hay transmisión. La inmunosupresión tiene lugar al igual que con el sarampión, pero es transitoria e insignificante desde el punto de vista clínico. Los títulos de anticuerpo tienden a ser menores que después de la infección natural, pero la inmunidad dura probablemente toda la vida.

Las contraindicaciones para la vacunación son embarazo, alergia a los huevos o neomicina, compromiso inmune (excepto el debido a infección con virus de inmunodeficiencia humana) y la administración reciente de inmunoglobulina.

El empleo de la vacuna con virus muertos del sarampión fue interrumpido en 1970, puesto que ciertas personas vacunadas se sensibilizaron y desarrollaron sarampión atípico grave cuando se infectaron con virus nativos.

La cuarentena no es eficaz como medida de control porque la transmisión del sarampión tiene lugar durante la fase prodrómica.

INFECCIONES CAUSADAS POR VIRUS NIPAH Y HENDRA

Dos paramixovirus zoonóticos que representan un nuevo género se reconocieron a finales del decenio de 1990-99 en los brotes de enfermedad de Australia (cuadro 40-2). Un brote de encefalitis grave en Malasia, en 1998 y 1999 fue causado por un paramixovirus recién descubierto llamado virus Nipah. Hubo un índice de mortalidad muy alto (> 35%). En un total de más de 250 casos; unos cuantos sobrevivientes quedaron con déficit neurológico permanente. Al parecer, las infecciones fueron causadas por la transmisión directa del virus de cerdos a humanos. El virus hendra, un virus equino, ha causado muchas muertes de caballos y la de un humano en Australia.

Los murciélagos de la fruta (zorros voladores) son el huésped natural para los virus Nipah y Hendra. Los cambios ecológicos, entre otros el uso de la tierra y las prácticas de cría de animales, son probablemente la razón del surgimiento de estas dos enfermedades infecciosas.

INFECCIONES POR VIRUS DE LA RUBÉOLA (SARAMPIÓN ALEMÁN)

La rubéola (sarampión alemán o sarampión de tres días) es una enfermedad febril aguda caracterizada por *rash* y linfadenopatía que afecta a niños y adultos jóvenes. Es el más leve de los *rashes* virales comunes. Sin embargo, la infección al principio del embarazo puede provocar anomalías graves en el feto, incluso malformaciones congénitas y retraso mental. Las consecuencias de la rubéola *in utero* se conocen como síndrome de rubéola congénita.

Clasificación

El virus de la rubéola, miembro de la familia *Togaviridae*, es el único miembro del género *Rubivirus*. Aunque sus caracte-

terísticas morfológicas y propiedades físico-químicas lo colocan en el grupo togavirus, el virus de la rubéola no es transmitido por artrópodos. La estructura y la reproducción del togavirus se describen en el capítulo 38.

Para mayor claridad en la presentación, describiremos por separado las infecciones de la rubéola posnatal y la rubéola congénita.

1. RUBÉOLA POSNATAL

Patogenia y patología

La infección en lactantes, infantes y adultos tiene lugar a través de la mucosa de las vías respiratorias superiores. La replicación viral inicial probablemente tiene lugar en el aparato respiratorio, seguida por multiplicación en los ganglios linfáticos cervicales. Después de 7 a 9 días se desarrolla viremia, que persiste hasta la aparición de los anticuerpos alrededor de los días 13 a 15. El desarrollo de los anticuerpos coincide con la aparición del *rash*, lo cual sugiere una base inmunitaria de ésta. Después del *rash*, el virus permanece detectable sólo en la nasofaringe, donde puede persistir varias semanas (figura 40-8). En 20 a 25% de los casos la infección primaria es subclínica.

Datos clínicos

Por lo general, la rubéola comienza con malestar, fiebre de poca intensidad y exantema morbiliforme que aparecen el mismo día. El exantema se inicia sobre la cara y se extiende al tronco y las extremidades; rara vez dura más de tres días. Ninguna característica del exantema es patognomónica de la rubéola. Salvo cuando acontecen epidemias la enfermedad es difícil de diagnosticar sobre bases clínicas dada su semejanza con el exantema causado por otros virus (p. ej., enterovirus).

En los adultos en especial mujeres, es común observar artralgia y artritis transitorias. A pesar de ciertas similitudes, la artritis por rubéola no se vincula etiológicamente con la artritis reumatoide. Las complicaciones raras incluyen purpura trombocitopénica y encefalitis.

Inmunidad

Los anticuerpos a la rubéola aparecen en el suero de los pacientes conforme el *rash* desaparece y los títulos aumentan con rapidez en las siguientes 1 a 3 semanas. Gran parte de los anticuerpos iniciales consisten en anticuerpos IgM, que en general no persisten más allá de seis semanas después de la enfermedad. Los anticuerpos IgM a la rubéola observados en una sola muestra de suero recolectado semanas después del *rash* demuestran evidencia de infección reciente por rubéola. Los anticuerpos IgG a la rubéola generalmente persisten toda la vida.

Un ataque de la enfermedad confiere inmunidad permanente, puesto que sólo existe un tipo antigénico del virus. Un antecedente de "rubéola" no es índice confiable de inmunidad, debido a que el *rash* no es característico. Las ma-

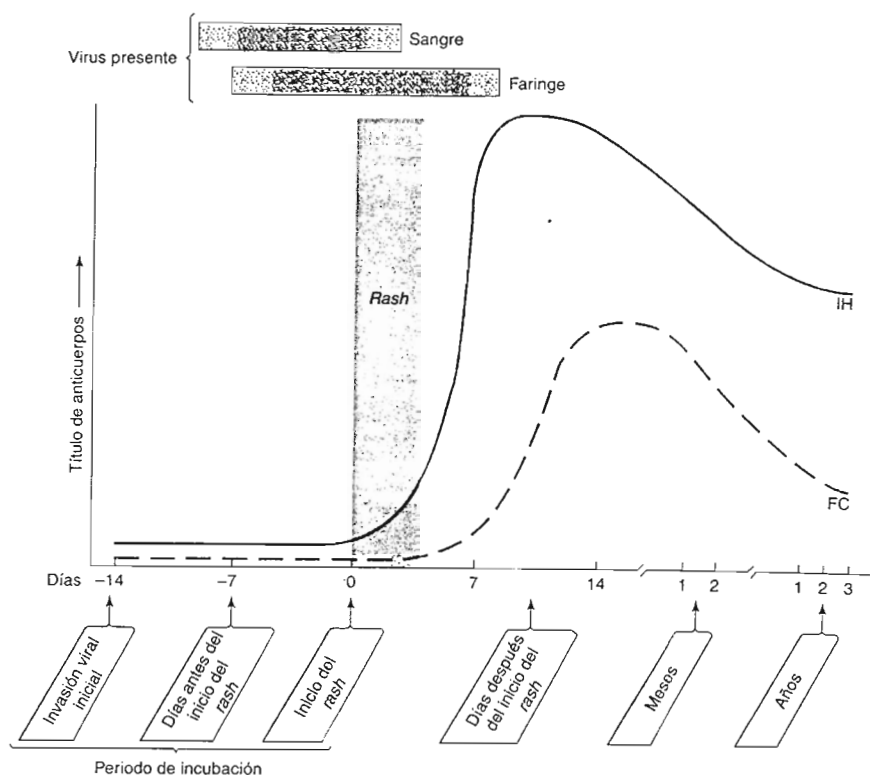


Figura 40-8. Historia natural de la infección primaria por el virus de la rubéola: producción de virus y respuestas de anticuerpos.

dres inmunes transfieren anticuerpos a sus hijos, a quienes protegen durante 4 a 6 meses.

Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico clínico de rubéola es poco confiable, puesto que muchas infecciones virales producen síntomas similares a los de la rubéola. El diagnóstico preciso se basa en estudios específicos de laboratorio (aislamiento del virus o evidencia de conversión serológica).

A. Aislamiento e identificación del virus

Las muestras nasofaríngeas o de la garganta tomadas seis días antes y después del inicio del exantema son buenas fuentes de virus de rubéola. Se podrían usar varias líneas celulares de mono o conejo. La rubéola produce un efecto citopático más bien poco aparente en la mayor parte de las líneas celulares. Mediante el empleo de células cultivadas en cubre objetos acoplados a viales, los antígenos virales se pueden detectar por medio de inmunofluorescencia a los 3 a 4 días posteriores a la inoculación.

B. Serología

La prueba de IH es la prueba serológica estándar para rubéola. Sin embargo, el suero debe tratarse previamente para retirar inhibidores inespecíficos antes de la prueba. Las pruebas de ELISA son ventajosas porque no requieren tratamiento previo del suero y pueden adaptarse para detectar la IgM específica.

La detección de la IgG es evidencia de inmunidad, puesto que sólo existe un serotipo del virus de la rubéola. Para confirmar con exactitud la infección reciente por rubéola (decisivamente importante en el caso de mujeres embarazadas), se debe demostrar un aumento de los títulos de anticuerpo en dos muestras de suero recolectadas cuando menos en un intervalo de 10 días o debe detectarse IgM específica a la rubéola en una sola muestra.

La precisión de las pruebas serológicas para anticuerpos a la rubéola tiene tal importancia que en la actualidad se encuentran disponibles en el comercio varios "kits" de diagnóstico. La mayoría de las personas son incapaces de demostrar su estado de inmunidad respecto de la rubéola de manera confiable, puesto que son comunes las infecciones subclínicas y los rashes inducidos por otros virus que pueden erróneamente tomarse por rubéola.

Epidemiología

La rubéola se distribuye ampliamente en todo el mundo. La infección acontece durante todo el año, con una incidencia máxima en la primavera. Se presentan epidemias cada 6 a 10 años, con pandemias explosivas cada 20 a 25 años. La infección se transmite por la vía respiratoria, pero la rubéola no es tan contagiosa como el sarampión. El empleo de vacuna de la rubéola eliminó la rubéola epidémica en EUA.

Tratamiento, prevención y control

La rubéola es una enfermedad leve, autolimitada, y no se administra tratamiento específico.

La rubéola comprobada por laboratorio en los primeros 3 a 4 meses del embarazo casi siempre se acompaña de manera uniforme con infección fetal. La inmunoglobulina intravenosa (IGIV) aplicada a la madre no protege al feto contra la infección por rubéola, debido a que generalmente no se administra con la suficiente prontitud para evitar la viremia.

Desde 1969 se dispone de vacunas con virus de la rubéola vivo atenuado. Esta vacuna se encuentra disponible como un antígeno único o combinado con la vacuna del sarampión y la parotiditis. El objetivo principal de la vacunación de rubéola es evitar las infecciones congénitas de esta enfermedad. La vacunación viral se multiplica en el cuerpo y se elimina en pequeñas cantidades, pero no se propaga a los contactos. Los niños vacunados no plantean amenaza para las madres susceptibles embarazadas. Por el contrario, los niños no inmunizados pueden traer al hogar virus nativos y propagarlos a contactos susceptibles de la familia. La vacuna induce inmunidad en cuando menos 95% de las personas a quienes se administra.

La vacuna es segura y causa pocos efectos adversos en los niños. En adultos, los únicos efectos secundarios importantes son artralgia transitoria y artritis en casi un cuarto de las mujeres vacunadas.

La vacunación en EUA ha disminuido la incidencia de rubéola de casi 70 000 casos en 1969 a sólo unos cientos en la actualidad. Los estudios de costo-beneficio en países desarrollados y en desarrollo han mostrado que los beneficios de la vacunación antirubéolica sobrepasan los costos.

2. SÍNDROME DE LA RUBÉOLA CONGÉNITA

Patogenia y patología

La viremia materna relacionada con la infección por rubéola durante el embarazo puede producir infección de la placenta y el feto. Sólo un número limitado de células fetales se llegan a infectar. La tasa de crecimiento de las células infectadas se reduce y como resultado el número de células en el momento del nacimiento es menor en los órganos afectados. La infección puede conducir a hipoplasia de órganos y alterar su desarrollo, y dar como resultado anomalías estructurales en el recién nacido.

El momento de la infección fetal determina la extensión del efecto teratógeno. En general, cuanto más temprana

es la infección en el embarazo, mayor el daño al feto. La infección durante el primer trimestre de embarazo da como resultado anomalías en el infante en casi 85% de los casos, se encontraron defectos detectables en 16% de los infantes que adquirieron la infección durante el segundo trimestre. Los defectos al nacimiento son poco comunes si la infección materna se presenta después de la semana 20 de gestación.

La infección materna inaparente también puede producir estas anomalías. La infección por rubéola además puede producir muerte cerebral y aborto espontáneo.

La infección intrauterina con rubéola se acompaña de persistencia crónica del virus en el recién nacido. Al nacimiento, el virus es fácil de detectar en las secreciones faringéas, múltiples órganos, líquido cefalorraquídeo, orina y frotis rectales. La excreción del virus puede perdurar de 12 a 18 meses después del nacimiento, pero la intensidad de la eliminación disminuye gradualmente con la edad.

Datos clínicos

Se ha aislado el virus de la rubéola de muchos órganos y tipos de células diferentes de los lactantes infectados *in utero*, y el daño inducido por la rubéola es igualmente disperso.

Las características clínicas del síndrome de la rubéola congénita pueden agruparse en tres categorías amplias: 1) efectos transitorios en los lactantes, 2) manifestaciones permanentes que pueden aparecer al nacimiento o reconocerse durante el primer año de vida, y 3) anomalías del desarrollo que se presentan y evolucionan durante la infancia y la adolescencia.

La tríada clásica de rubéola congénita consiste en cataratas, anomalías cardíacas y sordera. Los infantes también podrían mostrar síntomas transitorios de retraso en el desarrollo, exantema, hepatosplenomegalia, ictericia y meningoencefalitis.

La afección del sistema nervioso central es más global. La manifestación más común en el desarrollo es el retraso mental de moderado a profundo. Los problemas con el equilibrio y las habilidades motoras se desarrollan en niños preescolares. Los lactantes gravemente afectados a veces requieren permanecer en instituciones.

La panencefalitis progresiva por rubéola, una complicación rara que se desarrolla en el segundo decenio de la vida en los niños con rubéola congénita, es un deterioro neurológico grave que inevitablemente progresa hacia la muerte.

Inmunidad

Normalmente, los anticuerpos maternos a la rubéola en forma de IgG se transfieren a los lactantes y se pierden de manera gradual en un periodo de seis meses. La demostración de anticuerpos de rubéola de la clase IgM en infantes es diagnóstico de rubéola congénita. Puesto que los anticuerpos IgM no cruzan la placenta, su presencia indica que el infante los sintetizó en el útero. Los niños con rubéola congénita muestran inmunidad dañada mediada por células específicas para el virus de la rubéola.

Tratamiento, prevención y control

No hay tratamiento específico para la rubéola congénita. Se puede evitar mediante inmunización en la infancia con vacuna antirrubéolica para asegurar que las mujeres en edad de procrear sean inmunes.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Un niño de cuatro años de edad manifiesta una enfermedad febril aguda. Su pediatra le diagnostica parotiditis. El órgano que con más frecuencia exhibe signos de parotiditis es:
 - Pulmones
 - Ovario
 - Glándulas parótidas
 - Piel
 - Testículos
- Los paramixovirus incluyen las causas más importantes de infecciones respiratorias en infantes y niños pequeños. ¿Cuál de las siguientes es característica de paramixovirus?
 - El genoma es RNA de sentido negativo
 - La cubierta contiene una glucoproteína con actividad de fusión
 - Los paramixovirus no experimentan reclasificación genética
 - El ciclo de replicación tiene lugar en el citoplasma de células susceptibles
 - Todas las anteriores
 - Ninguna de las anteriores
- Un infante de tres meses de edad desarrolló una enfermedad respiratoria que el pediatra diagnosticó como bronquiolitis. La causa más probable de la enfermedad es:
 - Virus de parainfluenza tipo 4
 - Virus sincitial respiratorio
 - Virus de influenza
 - Adenovirus tipo 7
 - Virus de sarampión
- Varios paramixovirus causan neumonía en infantes o niños. ¿Para cuál de los siguientes paramixovirus hay una vacuna eficaz disponible que evitaría la neumonía?
 - Virus de parainfluenza tipo 1
 - Virus de sarampión
 - Virus sincitial respiratorio
 - Todos los anteriores
- Una mujer de 27 años de edad que tiene dos meses de embarazo presenta fiebre, malestar general y artralgia. Un fino exantema maculopapular aparece en cara, tronco y extremidades. Se diagnostica rubéola, y hay preocupación de que se infecte el feto y el resultado sea síndrome de rubéola congénita. ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca de este síndrome es correcto?
 - La enfermedad se puede evitar mediante la vacunación de los niños en edad escolar con la vacuna del sarampión.
 - Las anomalías congénitas tienen lugar cuando una mujer embarazada no inmune se infecta en cualquier momento durante el embarazo
 - La sordera es un defecto común relacionado con el síndrome de rubéola congénita
 - Sólo raras cepas de virus de rubéola son teratogénicas
 - Ninguno de los anteriores
- Un niño de cinco años de edad presenta febrícula, coriza, conjuntivitis y manchas de Koplik. El médico puede concluir que:
 - Probablemente el niño no ha sido vacunado de manera exitosa con la vacuna MMR
 - La madre del niño con un nuevo embarazo está en riesgo de infectarse y su bebé no nato puede desarrollar anomalías congénitas, incluso retraso mental
 - Pronto se presentará exantema en la cara del niño y durará sólo 2 a 3 días
 - El tratamiento del niño con el fármaco antiviral ribavirina se debe iniciar de inmediato para reducir el riesgo de que se presente encefalitis aguda
 - Todo lo anterior
- Los virus de la parainfluenza son ubicuos y causan enfermedades respiratorias en gente de todas las edades. Sin embargo, la infección con virus de parainfluenza son comunes porque:
 - Existen muchos tipos antigénicos de virus de parainfluenza y la exposición a nuevas cepas da como resultado nuevas infecciones
 - Las infecciones en el aparato respiratorio no provocan una respuesta inmune sistémica
 - Se presentan replicación limitada del virus, lo cual no estimula la producción de anticuerpos
 - El anticuerpo secretorio IgA en la nariz tiene vida corta y desaparece pocos meses después de la infección
 - Todo lo anterior
- Un niño de 20 meses de edad tuvo una enfermedad caracterizada por fiebre, irritabilidad, conjuntivitis y exantema de ladrillo rojo al inicio en la cara pero que se diseminó hacia abajo y hacia fuera. A la edad de nueve años el niño tuvo el inicio gradual de deterioro neurológico generalizado grave. Se diagnosticó panencefalitis esclerosante subaguda. ¿Cuál de los enunciados siguientes acerca de la panencefalitis esclerosante subaguda es correcto?
 - El virus defectuoso de la varicela zoster está presente en las células del cerebro
 - Títulos altos de anticuerpo de sarampión se encuentran en el líquido cefalorraquídeo
 - La incidencia de la enfermedad va en aumento desde la introducción de la vacuna MMR
 - Se presenta el deterioro progresivo rápido de la función cerebral
 - La enfermedad es una complicación rara y tardía de la infección por rubéola
- ¿Cuál de los paramixovirus siguientes tiene una glucoproteína superficial HN que carece de actividad de hemaglutinina?
 - Virus de sarampión
 - Virus de parotiditis
 - Virus de parainfluenza tipo 1
 - Virus sincitial respiratorio
 - Virus de rubéola
- Una niña de tres años de edad presenta una infección aguda por virus respiratorio que requiere hospitalización. Se considera el tratamiento con ribavirina. ¿Para cuál de las situaciones siguientes se aprobó el tratamiento con ribavirina?
 - Enfermedad del aparato respiratorio inferior debida al virus sincitial respiratorio en infantes
 - Síndrome de rubéola congénita
 - Meningitis aséptica debida a infección de parotiditis
 - Neumonía causada por el virus del sarampión en adultos
 - Encefalitis relacionada con el virus Nipah
 - Todas las anteriores

Respuestas: 1 = C; 2 = E; 3 = B; 4 = B; 5 = C; 6 = A; 7 = D; 8 = B; 9 = D; 10 = A

REFERENCIAS

- Collins PL, Murphy BR: Respiratory syncytial virus. Reverse genetics and vaccine strategies. *Virology* 2002;296:204.
- Falsey AR *et al.*: Human metapneumovirus infections in young and elderly adults. *J Infect Dis* 2003;187:785.
- Hall AJ: Morbilliviruses in marine mammals. *Trends Microbiol* 1995;3:4.
- Hall CB: Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. *N Engl J Med* 2001;344:1917.
- Henrickson KJ: Parainfluenza viruses. *Clin Microbiol Rev* 2003;16:242.
- Lamb RA, Kolakofsky D: Paramyxoviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*. 3rd ed. Fields BN *et al.* (eds.). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Tatsuo H, Yanagi Y: The morbillivirus receptor SLAM (CD 150). *Microbiol Immunol* 2002;46:13-5.

Coronavirus

Son virus RNA grandes con cubierta. Los coronavirus humanos son causantes del catarro común y se les han atribuido gastroenteritis en los lactantes. Se identificó a un nuevo coronavirus como la causa de una epidemia mundial de un síndrome respiratorio agudo grave (SARS) en 2003. Los coronavirus animales son causa de enfermedades de importancia económica en los animales domésticos. En los animales inferiores establecen infecciones persistentes en sus huéspedes naturales. El virus humano es difícil de cultivar y por tanto no está muy descrito.

PROPIEDADES DE LOS CORONAVIRUS

En el cuadro 41-1 se presentan las propiedades importantes de los coronavirus.

ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN

Los coronavirus son partículas con cubierta, de 120 a 160 nm, que contienen un genoma no segmentado de cadena sencilla de RNA de sentido positivo (27 a 32 kb), es el genoma de mayor tamaño entre los virus de RNA. El RNA genómico aislado es infectante. La nucleocápside helicoidal tiene de 9 a 11 nm de diámetro. Presenta prolongaciones en forma de raqueta o de pétalo de 20 nm de longitud, ampliamente distribuidas sobre la superficie externa de la cubierta y semeja una corona solar (figura 41-1). Las proteínas de la estructura viral incluyen una proteína de la nucleocápside (N) fosforilada de 50 a 60 kDa, una glucoproteína de membrana (M) de 20 a 35 kDa que sirve como matriz proteínica integrada en la bicapa lipídica de la cubierta y que interactúa con la nucleocápside, y la glucoproteína en espiga (S; 180 a 220 kDa) que constituye los peplómeros en forma de pétalo. Algunos virus, incluso el coronavirus humano OC43, contienen una tercera glucoproteína (HE; 65 kDa) que produce hemaglutinación y muestra actividad de acetiltransferasa.

En la figura 41-2 se muestran las organizaciones del genoma de coronavirus representativos. El orden de los genes para las proteínas codificadas por todos los coronavirus es *Pol-S-M-N*. Algunos marcos de lectura abiertos que

codifican proteínas no estructurales y la proteína HE difieren en el número y el orden de los genes entre los coronavirus.

Clasificación

Las características empleadas para clasificar los *Coronaviridae* incluyen la morfología de la partícula, la estrategia peculiar de reproducción del RNA, la organización del genoma y la homología de la secuencia de nucleótidos. Existen dos géneros en la familia *Coronaviridae*: *Coronavirus* y *Torovirus*. Los torovirus se distribuyen ampliamente en ungulados y al parecer se relacionan con diarrea.

Hay dos serotipos de coronavirus humanos, representados por las cepas 229E y OC43. En estos dos grupos se incluyen coronavirus de animales domésticos y de roedores. Hay un tercer grupo antigénico distinto que contiene los virus bien estudiados de la bronquitis infecciosa aviar. Al parecer existe significativa heterogeneidad antigénica dentro de las cepas virales en un grupo antigénico mayor (o sea, similar a 229E). Se presentan reacciones cruzadas entre algunas cepas humanas y de animales. Ciertas cepas poseen hemaglutininas.

Cuadro 41-1. Propiedades importantes de los coronavirus

Virión: esféricos, 120-160 nm de diámetro, nucleocápside helicoidal
Genoma: RNA de cadena única, lineal, no segmentado, en sentido positivo 27 a 32 kb, con cola de poliadenilo, infectante
Proteínas: dos glucoproteínas y una fosfoproteína. Algunos virus contienen una tercera glucoproteína (hemaglutinina esterasa)
Cubierta: contiene espigas grandes ampliamente distribuidas, en forma de raqueta o de pétalo
Replicación: en el citoplasma; las partículas maduran por gemación en el retículo endoplásmico y aparato de Golgi
Características notables:
Causa resfriados y síndrome respiratorio agudo y grave (SARS)
Muestran recombinación con gran frecuencia y dificultad para crecer en cultivos celulares

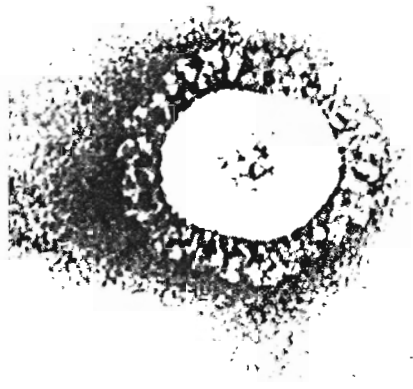


Figura 41-1. Coronavirus humano OC43. Nótese las características espigas grandes ampliamente distribuidas que forman una "corona" alrededor del virión (297 000x). (Cortesía de FA Murphy y EL Palmer.)

El nuevo coronavirus recuperado en 2003 de pacientes con síndrome respiratorio agudo grave (SARS) al parecer representa un nuevo grupo (cuarto) de virus.

Replicación de los coronavirus

Puesto que el coronavirus humano no crece bien en cultivo de células, los detalles de la replicación viral provienen de estudios con virus de la hepatitis murina, estrechamente

relacionados con la cepa humana OC43 (figura 41-3). El ciclo de replicación tiene lugar en el citoplasma de las células.

El virus se adhiere a los receptores situados en las células específicas mediante las glucoproteínas en espiga de la cubierta viral (mediante S o HE). Los coronavirus humanos y de ratones utilizan receptores no interrelacionados. El receptor para el coronavirus humano 229E es una aminopeptidasa N, en tanto que múltiples isoformas de la familia de glucoproteínas relacionadas con el antígeno carcinoembrionario sirven como receptores para el coronavirus del ratón. A continuación, la partícula penetra al interior de la célula probablemente mediante absorción por endocitosis. La glucoproteína S puede producir fusión de la cubierta viral con la membrana celular.

El primer evento después de perder la cubierta es la traducción del RNA genómico viral para producir una RNA polimerasa dependiente del RNA específica del virus. La polimerasa viral transcribe un RNA complementario de longitud completa (cadena de signo negativo) que sirve como plantilla para alojar un conjunto de 5 a 7 mRNA subgenómicos. Sólo la secuencia terminal 5' del gen de cada mRNA se traduce. Las copias del RNA genómico completo también se transcriben a partir del RNA complementario. Como cada mRNA subgenómico se traduce en un polipéptido único, en las infecciones por coronavirus no son comunes los precursores de poliproteínas. Tal vez el RNA genómico codifica una poliproteína grande que se procesa para producir una RNA polimerasa viral.

Las moléculas recién sintetizadas del RNA genómico interactúan en el citoplasma con la proteína de la nucleocápside para formar nucleocápsides helicoidales. Existe un sitio de enlace preferido para la proteína N dentro del RNA señal. Las nucleocápsides geman a través de las membranas del retículo endoplásmico rugoso y del aparato de Golgi en áreas que contienen las glucoproteínas virales. A

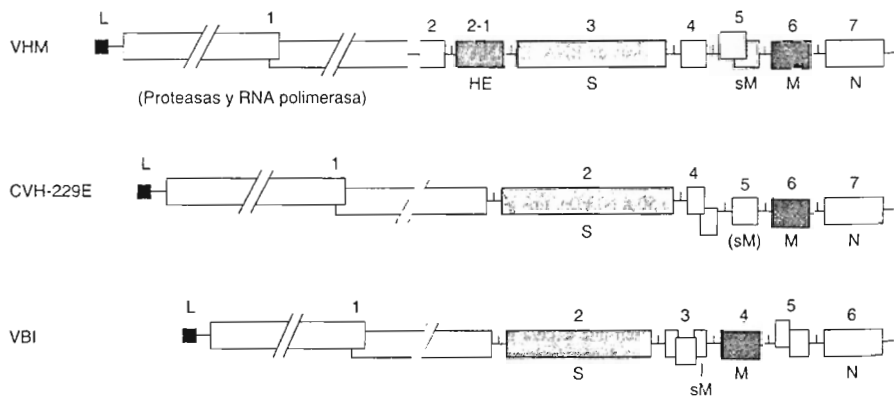


Figura 41-2. Organización del genoma del coronavirus. El genoma del virus de la hepatitis murina (VHM) posee 31.2 kb, en tanto que el genoma del virus de la bronquitis infecciosa (VBI) tiene 27.6 kb. También se incluye el coronavirus humano 229E (CVH). Se muestran marcos de lectura abiertos que codifican proteínas estructurales (recuadros). (Reproducido con autorización de Holmes KV, Lai MMC: Coronaviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editores]. Lippincott-Raven, 1996.)

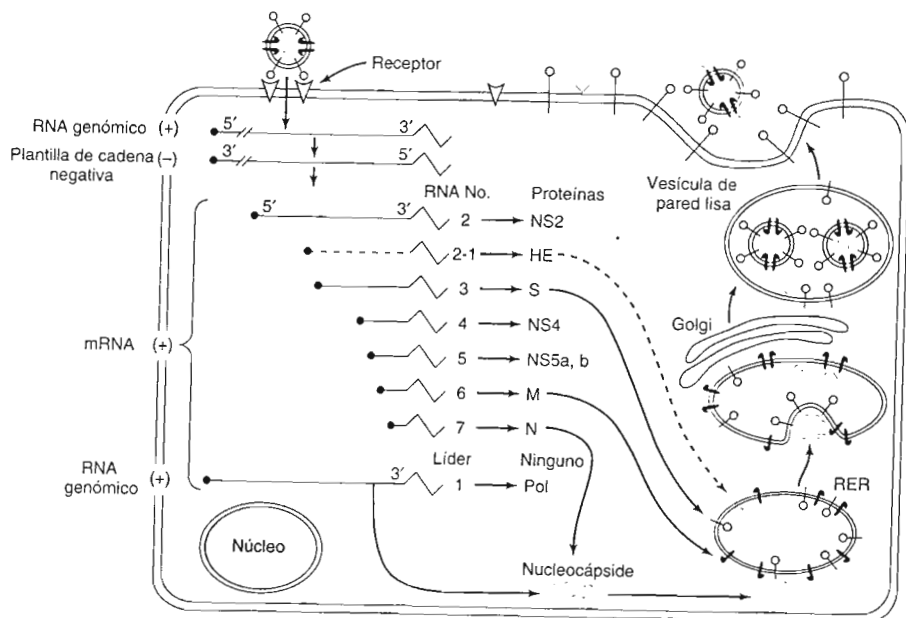


Figura 41-3. Modelo de reproducción del coronavirus con base en el virus de la hepatitis murina. Los viriones se unen a la membrana plasmática mediante interacción con glucoproteínas receptoras específicas. La penetración tiene lugar por fusión con la membrana plasmática mediada por la proteína S de la cubierta viral o en algunas cepas por fusión con las membranas endocíticas. El RNA genómico se traduce para formar una poliproteína (> 800 kDa) procesada para producir múltiples proteínas que sirven como RNA polimerasa dependiente del RNA, específica del virus y tal vez desempeña otras funciones en la transcripción y la replicación del RNA viral. En las células infectadas se superponen conjuntos de mRNA subgenómico coterminales en la región 3'. El RNA genómico y los mRNA poseen extremo poliadenilado. Cada uno de los mRNA policistronicos se traduce para producir sólo el polipéptido codificado en el extremo 5' del mRNA. La proteína N y el RNA recién sintetizado se ensamblan en el citoplasma para formar nucleocápsides helicoidales. La glucoproteína S se glucosila, trimetiza y transporta a través del aparato de Golgi, donde sufre procesamiento adicional. La proteína S excedente no incorporada a los viriones se transporta a la membrana plasmática, donde puede participar en la fusión célula-célula. La glucoproteína M de la matriz se transporta al aparato de Golgi, donde se acumula; no se transporta a la membrana plasmática. Los viriones se forman en un compartimiento de gemación entre el retículo endoplásmico rugoso (RER) y el aparato de Golgi. Los viriones no forman yemas en la membrana plasmática sino que aparentemente se liberan por la fusión de las vesículas que contienen viriones con la membrana plasmática. Un gran número de viriones puede permanecer adsorbido a las membranas plasmáticas de las células infectadas. (Reproducido de Holmes KV, Lai MMC: Coronaviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al [editors]. Lippincott-Raven, 1996. Adapted from Sturman LS, Holmes KV: *Adv Virus Res* 1983;28:35.)

continuación, los viriones maduros pueden transportarse en vesículas a la periferia de la célula para salir o esperar hasta que la célula muera para liberarse.

Los viriones no se forman por gemación en la membrana plasmática. Se puede observar un gran número de partículas sobre el exterior de las células infectadas y presuntamente son adsorbidas a dichas células después de la liberación del virión. Algunos coronavirus inducen fusión celular; esta fusión está mediada por la glucoproteína S y requiere un pH de 6.5 o mayor. Algunos coronavirus establecen infección persistente en las células más que ser citocidas.

Los coronavirus muestran una gran frecuencia de mutación durante cada ciclo de replicación, incluso la genera-

ción de una gran incidencia de mutaciones por delección. Los coronavirus sufren recombinación con gran frecuencia durante la replicación; esto es raro para un virus de RNA con genoma no segmentado y puede contribuir a la evolución de nuevas cepas del virus.

INFECCIÓN EN HUMANOS POR CORONAVIRUS

Patogenia

Los coronavirus tienden a ser muy específicos de especie. Poco se sabe de la patogenia de las enfermedades por coro-

navirus en humanos. La mayor parte de los coronavirus animales conocidos tiene tropismo por las células epiteliales de los aparatos respiratorio o gastrointestinal. *In vivo*, la infección por coronavirus puede diseminarse, como en el virus de la hepatitis murina, o localizarse. Las infecciones por coronavirus en humanos por lo general se limitan a las vías respiratorias superiores.

En contraste, la epidemia de SARS en 2003 se caracterizó por enfermedad respiratoria grave, que incluía neumonía e insuficiencia respiratoria progresiva. Con certeza considerable, el virus del SARS se originó en un huésped no humano y adquirió la capacidad de infectar a humanos. En regiones rurales de China, donde comenzó la epidemia, conviven personas, cerdos y aves domésticas y hay un uso extendido de especies salvajes para alimento y comida tradicional, condiciones que promueven el surgimiento de nuevas cepas virales.

Se sospecha que los coronavirus causan gastroenteritis en humanos, pero aun no se han aislado los agentes. Existen varios modelos animales para los coronavirus entéricos, incluso el virus de la gastroenteritis porcina transmisible (TGEV). La enfermedad se presenta en animales jóvenes y se caracteriza por destrucción de células epiteliales y pérdida de la capacidad de absorción. Es interesante mencionar que en el decenio de 1980-89 apareció en Europa un nuevo coronavirus porcino de vías respiratorias (PRCV) que produjo epizootias muy extendidas en cerdos; el análisis de la secuencia mostró que el PRCV se derivó del TGEV mediante una delección amplia en la glucoproteína S1.

Datos clínicos

Los coronavirus humanos producen "catarros", por lo general afebriles en adultos. Los síntomas son similares a los producidos por rinovirus, caracterizados por secreción nasal y malestar. El periodo de incubación es de 2 a 5 días y los síntomas generalmente duran casi una semana. Las vías respiratorias inferiores rara vez se afectan, aunque la neumonía de los reclutas militares se atribuye a la infección por coronavirus. Los niños asmáticos pueden presentar ataques de sibilancias, y en los adultos la enfermedad pulmonar crónica puede exacerbar los síntomas respiratorios.

El recién reconocido coronavirus SARS causa enfermedad respiratoria grave. El tiempo de incubación promedio es de aproximadamente seis días. Los primeros síntomas comunes son fiebre, malestar general, cefalea, mareo, tos y ardor de garganta, seguidos días después de respiración entrecortada. Muchos pacientes tienen radiografías de tórax anormales. Algunos casos avanzan con rapidez a dificultad respiratoria aguda, de modo que requieren apoyo ventilatorio. La muerte por insuficiencia respiratoria progresiva tiene lugar en casi 10% de los casos, con una mayor tasa de mortalidad en adultos mayores.

Las características clínicas de enteritis relacionada con coronavirus no han sido descritas con claridad. Al parecer son similares a las de las infecciones por rotavirus.

Inmunidad

Igual que con otros virus del sistema respiratorio, se desarrolla inmunidad pero no es absoluta. La inmunidad contra

los antígenos de las prolongaciones superficiales es quizá más importante para la protección. La resistencia a la reinfección puede durar varios años, pero son comunes las reinfecciones con cepas similares.

La mayor parte de los pacientes (> 95%) con SARS desarrollaron una respuesta de anticuerpo para los antígenos virales detectable mediante una prueba de anticuerpo fluorescente o ELISA. Fue importante que se recolectara suero de la etapa de convalecencia más de 28 días después del inicio de los síntomas.

Diagnóstico de laboratorio

A. Detección de antígeno y de ácido nucleico

Cuando se dispone de un antisero de gran calidad, por lo general se pueden detectar antígenos de coronavirus en las células de las secreciones respiratorias mediante la prueba de ELISA. Los coronavirus entéricos pueden detectarse al examinar muestras de heces con el microscopio electrónico. Se anticipa que los análisis mediante la reacción en cadena de la polimerasa serán útiles para detectar el ácido nucleico del coronavirus en las secreciones respiratorias y en las muestras de heces.

B. Aislamiento e identificación del virus

Es difícil aislar los coronavirus humanos en cultivo de células. Sin embargo, se aisló el virus del SARS en muestras bucofaringeas usando células de riñón de mono Vero.

C. Serología

Debido a la dificultad para aislar el virus, el serodiagnóstico que utiliza sueros de paciente convaleciente y en etapa aguda es el único medio práctico para confirmar la infección por coronavirus. También se pueden emplear ELISA y pruebas de hemaglutinación. Es posible establecer el diagnóstico serológico de la infección con cepa 229E mediante una prueba de hemaglutinación pasiva, en la cual los eritrocitos recubiertos con antígeno del coronavirus son aglutinados por el suero que contiene el anticuerpo.

Epidemiología

Los coronavirus están distribuidos a nivel mundial. Son la principal causa de enfermedad respiratoria en adultos durante algunos meses de invierno cuando la incidencia de resfriados es alta, pero el aislamiento de rinovirus u otros virus respiratorios es bajo. Tienden a estar relacionados con brotes bien definidos.

Se estima que los coronavirus ocasionan de 15 a 30% de todos los resfriados. La incidencia de infecciones por coronavirus difiere en gran medida año con año, con una variación de un estudio a tres años de 1 a 35%.

Los anticuerpos a los coronavirus respiratorios aparecen en la primera infancia, su prevalencia aumenta con la edad y se encuentran en más de 90% de los adultos. Al parecer, la reinfección con síntomas tiene lugar después de un año.

Los coronavirus tienen una relación más frecuente con la enfermedad respiratoria aguda en los adultos mayores.

junto con rinovirus, virus de influenza y virus sincitial respiratorio. La frecuencia de infección por coronavirus se estima en casi la mitad de la de los rinovirus y es equivalente a las de los dos últimos virus.

El brote de SARS surgió en el sur de China a finales de 2002 y, al momento de disminuir a mediados de 2003, había producido más de 8 000 casos en 29 países, con más de 800 muertes (tasa de casos fatales de 9.6%). En casi todos los casos hubo una historia de contacto cercano con un paciente de SARS o de viaje reciente a un área donde se sabía de su existencia. Los viajes aéreos internacionales permitieron que el SARS se distribuyera alrededor del mundo con velocidad sin precedentes. La experiencia con el SARS ilustró que en un mundo globalizado, un brote de enfermedad infecciosa en cualquier parte de éste pone en riesgo a todos los países.

De manera interesante, se identificó a pocas personas con SARS como "superdiseminadores"; al parecer cada uno había infectado a más de 10 contactos. Los superdiseminadores habían sido descritos para otras enfermedades como rubéola, Ébola y tuberculosis y es de suponer que reflejan una cierta constelación de factores del huésped, virales y ambientales.

Se sabe muy poco acerca de la epidemiología de las infecciones por coronavirus enterico.

Tratamiento, prevención y control

No existe algún tratamiento probado para las infecciones por coronavirus y tampoco hay vacuna.

Las medidas de control que resultaron eficaces para detener el avance del SARS fueron aislamiento del paciente, cuarentena para quienes habían estado expuestos y restricción de viajes, así como uso de guantes, batas, lentes protectores y respiradores por parte de los trabajadores de áreas de atención a la salud.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 63 años presenta fiebre, cefalea, malestar general, mialgia y tos. Es el comienzo de la temporada de virus respiratorio de invierno y el médico de la paciente no sabe qué virus están presentes en la comunidad. ¿Cuál de los siguientes virus es causa de enfermedad respiratoria aguda?

- A. Virus de influenza
 - B. Adenovirus
 - C. Virus sincitial respiratorio
 - D. Coronavirus
 - E. Todos los anteriores
2. Con base en el análisis de secuencia y pruebas serológicas, ¿cuál de los siguientes es el origen más probable del coronavirus del SARS?
 - A. La recombinación entre un coronavirus humano y uno animal que dio lugar a un nuevo virus
 - B. Transmisión de un coronavirus animal hacia los humanos
 - C. Mutación de un coronavirus humano que produjo mayor virulencia
 - D. Adquisición de genes celulares humanos por un coronavirus por medio de la recombinación que permitió la evasión viral de la respuesta inmune del huésped
 3. La epidemia de 2002-2003 del síndrome respiratorio agudo severo por coronavirus produjo muchos casos y muertes. ¿Cuál es la vía primaria de transmisión de los coronavirus humanos?
 - A. Fecal-oral
 - B. Respiratoria
 - C. Sanguínea
 - D. Perinatal, de madre a infante
 - E. Actividad sexual
 4. Las infecciones por coronavirus en humanos causan un síndrome de resfriado común. Sin embargo, un brote reciente de SARS se caracterizó por neumonía e insuficiencia respiratoria progresiva. La prevención o el tratamiento de estas enfermedades se pueden llevar a cabo por medio de:
 - A. Una vacuna con subunidad
 - B. Una vacuna atenuada viva adaptada al resfriado
 - C. El fármaco antiviral amantadina
 - D. Medidas de control de infección, que incluyen aislamiento y uso de equipos de seguridad
 - E. El fármaco antiviral aciclovir
 5. Una epidemia de infecciones agudas por virus respiratorios tiene lugar entre los adultos mayores de un asilo. Se sospecha de virus de influenza y coronavirus, que pueden causar enfermedad respiratoria grave. ¿Cuál de las siguientes características comparten estos virus?
 - A. Genoma segmentado
 - B. Genoma de RNA infeccioso
 - C. Alta frecuencia de recombinación durante la replicación
 - D. Un solo serotipo infecta a los humanos
 - E. Genoma de sentido inverso

Respuestas: 1 = E; 2 = B; 3 = B; 4 = D; 5 = C

REFERENCIAS

- Lee N *et al.*: A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* 2003;348:1986.
- Rota PA *et al.*: Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science* 2003;30:1394.

Rabia, infecciones por virus lentos y enfermedades por priones

Muchos virus diferentes pueden invadir el sistema nervioso central y causar enfermedad. En este capítulo se estudian la rabia, una encefalitis viral terrible desde la antigüedad, que sigue siendo una enfermedad incurable; las infecciones por virus lentos, y las encefalopatías espongiformes transmisibles —enfermedades neurodegenerativas raras causadas por agentes no convencionales llamados “priones”.

RABIA

La rabia es una infección aguda del sistema nervioso central, casi siempre mortal. El virus comúnmente se transmite a los humanos por mordida de un animal rabioso. Aunque los casos humanos son escasos, la rabia es un problema importante de salud pública debido a su amplia propagación entre reservorios animales.

Propiedades del virus

A. Estructura

El virus de la rabia es un rhabdovirus con propiedades morfológicas y bioquímicas comunes con el virus de la estomatitis vesicular del ganado bovino y con varios virus de animales, plantas e insectos (cuadro 42-1). Los rhabdovirus son partículas en forma de bastón o de bala que miden 75×180 nm (figura 42-1). Las partículas están rodeadas por una cubierta membranosa con prolongaciones espiculares de 10 nm de longitud. Los peplómeros (espigas) se componen de trímeros de la glucoproteína viral (G). Dentro de la cubierta se encuentra una ribonucleocápside. El genoma es de RNA de cadena sencilla en sentido negativo (12 kb; PM 4.6×10^6). Los viriones contienen una RNA polimerasa dependiente del RNA. La densidad de flotación de las partículas en CsCl es de 1.19 g/cm^3 aproximadamente, con un peso molecular de 300 a $1\,000 \times 10^6$.

B. Clasificación

Estos virus se clasifican en la familia *Rhabdoviridae*. El virus de la rabia pertenece al género *Lyssavirus*, en tanto que

los virus de la estomatitis vesicular son miembros del género *Vesiculovirus*. Los rhabdovirus se distribuyen muy ampliamente en la naturaleza, infectan vertebrados, invertebrados y plantas. La rabia es el único rhabdovirus importante desde el punto de vista médico. Muchos de los rhabdovirus animales infectan insectos, no así el virus de la rabia.

C. Reacciones a los agentes físicos y químicos

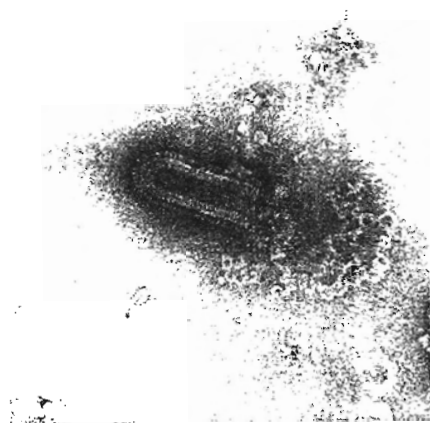
El virus de la rabia sobrevive al almacenamiento a 4°C durante semanas, y a -70°C durante años. Se inactiva por el CO_2 pero puede almacenarse en el hielo seco en frascos sellados de vidrio. El virus de la rabia muere rápidamente por exposición a la radiación ultravioleta o a la luz solar, por calor (1 h a 50°C), por solventes de lípidos (éter, 0.1% de desoxicolato de sodio), por tripsina, por detergentes y por un pH extremo.

D. Replicación del virus

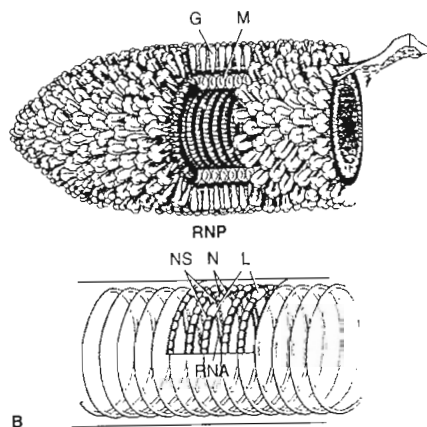
El ciclo de replicación del rhabdovirus se muestra en la figura 42-2. El virus de la rabia se une a las células por medio de sus espigas de glucoproteína; el receptor nicotínico de la acetilcolina puede servir como receptor celular para el virus de la rabia. El genoma de RNA de una sola cadena es

Cuadro 42-1. Propiedades importantes de los rhabdovirus

Virión: en forma de bala, 75 nm de diámetro $\times$ 180 nm de longitud
Composición: RNA (4%), proteínas (67%), lípidos (26%), carbohidratos (3%)
Genomas: RNA de cadena única, lineal, no segmentado, sentido negativo, PM 4.6 millones, 12 kb
Proteínas: una glucoproteína de cubierta
Cubierta: presente
Replicación: citoplasma; gemación de viriones de la membrana plasmática
Características notables: Numerosos virus con extensa variedad de huéspedes. Los grupos incluyen el virus mortal de la rabia



A



B

Figura 42-1. A: micrografía electrónica de una partícula característica en forma de bala de la familia de los rabdovirus (100 000 x). Aquí se muestra el virus de la estomatitis vesicular teñido en negativo con fosfotungstato de potasio. (Cortesía de RM McCombs, M Benyesh-Melnick, y JP Brunschwing.) B: ilustración esquemática del virus de la rabia (arriba) para mostrar las prolongaciones de la glucoproteína de superficie (G) que se proyectan desde la cubierta lipídica que rodea la ribonucleoproteína interna (RNP) y la proteína matriz (M) que reviste la cubierta. La RNP helicoidal (abajo) comprende el genoma de RNA simple más la nucleoproteína (N), y las proteínas polimerasa (L y P [también denominadas NS]). (Reproducido con autorización de Dietzschold B et al.: *Rhabdoviruses*. In: *Fields Virology*, 3rd ed. Fields BN et al. [editors]. Lippincott-Raven, 1996.)

transcrito por la RNA polimerasa relacionada con el virión a cinco especies del mRNA. La plantilla para la transcripción es el genoma de RNA en forma de ribonucleoproteína (RNP) (encerrado en la proteína N y el cual contiene la transcriptasa viral). El mRNA monocistrónico codifica las cinco proteínas del virión: nucleocápside (N), proteínas polimerasa (L, P), matriz (M) y glucoproteína (G). El genoma RNP es una plantilla para el RNA complementario de sentido positivo que se encarga de la generación de la progenie de RNA de sentido negativo. Las mismas proteínas virales sirven como polimerasa para la replicación del RNA viral y también para la transcripción. Se requiere la traducción simultánea para la replicación, particularmente de las proteínas virales N y P. El RNA genómico recién formado se une a la transcriptasa viral y a la nucleoproteína para formar centros de RNP en el citoplasma. Las partículas adquieren una cubierta por gemación a través de la membrana plasmática. La proteína viral matriz forma una capa sobre la cara interna de la envoltura, en tanto que la glucoproteína viral se encuentra sobre la capa externa y forma las espigas.

E. Susceptibilidad de los animales y crecimiento del virus

El virus de la rabia tiene una amplia variedad de huéspedes. Todos los animales de sangre caliente, incluso el humano, pueden infectarse. La susceptibilidad varía entre las especies de mamíferos, que van desde las más susceptibles (zorros, coyotes, lobos) hasta las menos (zarigüeyas); entre las de susceptibilidad intermedia se incluyen zorillos, mapaches y murciélagos (cuadro 42-2). El virus se distribuye ampliamente dentro del animal infectado, sobre todo en el sistema nervioso, saliva, orina, linfa, leche y sangre. La recuperación de la infección es rara excepto en ciertos murciélagos, en los cuales el virus muestra una adaptación peculiar en las glándulas salivales. Los murciélagos vampiro pueden transmitir el virus durante meses sin que ellos mismos muestren signo alguno de la enfermedad.

Recién aisladas en el laboratorio, las cepas se conocen como virus de la calle. Estas cepas muestran periodos de incubación largos y variables (por lo general 21 a 60 días en perros) y casi siempre producen cuerpos de inclusión intracitoplásmicos. El paso seriado de un cerebro a otro en conejos produce un virus "fijo" que no se multiplica más en los tejidos extra-neurales. Este virus fijo (o mutante) se multiplica con rapidez, y el periodo de incubación se acorta hasta 4 a 6 días. Los cuerpos de inclusión sólo se observan con dificultad.

F. Propiedades antigénicas

Existe un solo serotipo del virus de la rabia. Sin embargo, hay diferencia entre las cepas de virus aislados de las diferentes especies (mapaches, zorros, zorillos, perros, murciélagos) en diferentes regiones geográficas. Estas cepas virales se pueden distinguir por los epítomos en nucleoproteínas y glucoproteínas identificados mediante anticuerpos monoclonales y también por las secuencias específicas de nucleótidos. En EUA hay cuando menos cinco variantes antigénicas observadas en animales terrestres y otras ocho variantes encontradas en murciélagos.

Se han seleccionado mutantes avirulentos del virus de la rabia mediante ciertos anticuerpos monoclonales contra la glucoproteína viral. Una sustitución del aminoácido en

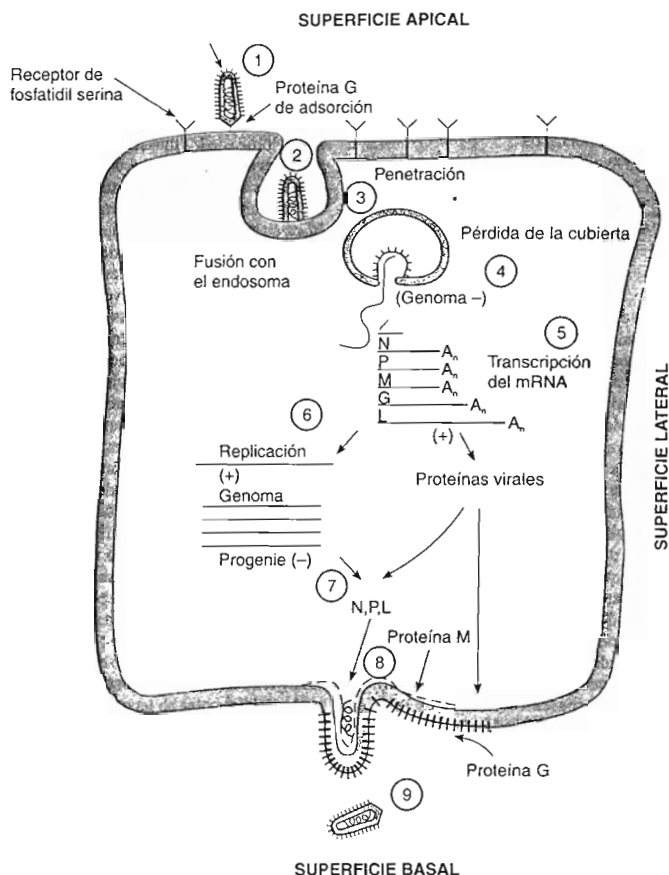


Figura 42-2. Pasos de la replicación de un rabdovirus: **1)** fijación del virus; **2)** penetración en un endosoma; **3)** fusión del virus con la membrana del endosoma, liberando su centro en el citoplasma celular; **4)** pérdida de la cubierta de la nucleocápside; **5)** transcripción del RNA genómico viral de sentido negativo a un RNA de sentido positivo; **6)** el RNA de sentido positivo sirve como un moderador de la síntesis del genoma viral; además, el mRNA origina a las proteínas virales; **7)** el RNA de sentido negativo se incorpora a las nucleocápsides (N); **8)** las nucleocápsides se unen a la proteína matriz (M) en la superficie celular; **9)** germinación y desprendimiento del virus desde la superficie celular. (Reproducido con autorización de Levy JA, Fraenkel-Conrat H, Owens RA: *Virology*, 3rd ed. Prentice Hall, 1994.)

la posición 333 de la glucoproteína resulta en la pérdida de la virulencia, lo cual indica alguna función esencial de ese sitio de la proteína en la patogenia de la enfermedad.

Las espigas purificadas que contienen la glucoproteína viral inducen anticuerpos neutralizantes en los animales. En el diagnóstico de la rabia mediante inmunofluorescencia se emplea antisuero preparado contra la nucleocápside purificada.

Patogenia y patología

El virus de la rabia se multiplica en el músculo o el tejido conjuntivo en el sitio de la inoculación, después penetra a los nervios periféricos en las uniones neuromusculares y se propaga por los nervios al sistema nervioso central. Sin embargo, también es posible que algunos virus de la rabia penetren directamente al sistema nervioso sin replicación

Cuadro 42-2. Susceptibilidad de los animales a la rabia¹

Muy grande	Grande	Moderada	Baja
Zorros	Hámsters	Perros	Zarigüeyas
Coyotes	Zorillos	Ovejas	
Chacales	Mapaches	Cabras	
Lobos	Gatos	Caballos	
Ratas algodón	Murciélagos	Primates no homínidos	
	Conejos		
	Bovinos		

¹ Modificado de Baer GM, Bellini WJ, Fishbein DB: *Rhabdoviruses*. In: *Fields Virology*. Fields BN et al. (editors). Raven Press, 1990.

local. Se multiplican en el sistema nervioso central y desarrollan encefalitis progresiva y después pueden diseminarse a través de los nervios periféricos hacia las glándulas salivales y otros tejidos. El órgano con los mayores títulos de virus es la glándula salival submaxilar. Otros órganos donde se encuentra el virus de la rabia incluyen páncreas, riñón, corazón, retina y córnea. No se ha aislado el virus de la rabia en la sangre de las personas infectadas.

La susceptibilidad a la infección y el periodo de incubación a veces dependen de la edad del huésped, de los antecedentes genéticos y del estado de inmunidad, de la cepa viral implicada, de la cantidad del inóculo, de la gravedad de las heridas y de la distancia que el virus debe viajar desde su sitio de entrada hasta el sistema nervioso central. La tasa de ataque es mayor y el periodo de incubación más corto en las personas mordidas en la cara o la cabeza; la mortalidad es menor en las personas mordidas en las piernas.

El virus de la rabia produce una inclusión citoplásmica eosinófila específica, el corpúsculo de Negri, en las células nerviosas infectadas. Los corpúsculos de Negri están llenos de nucleocápsides virales. La presencia de estas inclusiones es patognomónica de la rabia, pero no se observa cuando menos en 20% de los casos. Por tanto, la ausencia de los corpúsculos de Negri no excluye el diagnóstico de rabia. La importancia de los corpúsculos de Negri en el diagnóstico de la rabia se redujo por el desarrollo de la prueba diagnóstica de anticuerpos fluorescentes.

Datos clínicos

La rabia es principalmente una enfermedad de animales y se propaga a los humanos por mordedura de animales rabiosos o por contacto con la saliva de estos animales. La enfermedad es una encefalitis aguda fulminante y mortal. El periodo de incubación típico en humanos es de 1 a 2 meses, pero puede ser tan breve como una semana o tan prolongado como muchos años (más de 19 años). En general, es más corto en los niños en comparación con los adultos. Las manifestaciones clínicas se pueden dividir en tres fases: una fase prodrómica breve, una fase neurológica aguda y coma. El periodo prodrómico dura 2 a 10 días y puede mostrar cualquiera de los siguientes síntomas inespecíficos: malestar, anorexia, cefalea, fotofobia, náuseas y vómito, malestar faríngeo y fiebre. Generalmente existe una sensación anormal alrededor de la herida.

Durante la fase neurológica aguda los pacientes muestran signos de disfunción del sistema nervioso como nerviosismo, aprensión, alucinaciones y comportamiento extraño. Se observa sobreactividad simpática general, la cual incluye lagrimeo, dilatación pupilar e incrementos de la salivación y la sudación. Un gran número de pacientes muestra hidrofobia (temor al agua). La deglución desencadena un espasmo doloroso de los músculos faríngeos. Esta fase va seguida por convulsiones o coma y muerte. La principal causa de muerte es la parálisis respiratoria. Antes de la muerte pueden desarrollarse síntomas de parálisis progresiva. La rabia paralítica aparece en casi 20% de los pacientes, con mayor frecuencia en aquellos infectados con el virus de la rabia por murciélagos. El curso de la enfermedad puede ser más lento y algunos pacientes sobreviven 30 días. La recuperación y la sobrevivencia son muy raras.

La rabia debe considerarse en todo caso de encefalitis o mielitis de causa desconocida, incluso en ausencia de una historia de exposición al virus y, sobre todo, en personas que han vivido o viajado fuera de EUA. La mayoría de los casos de rabia en EUA se han presentado en individuos sin exposición conocida al virus. Debido al periodo de incubación prolongado, las personas pueden olvidar un posible incidente de exposición. Además, quienes contraen rabia por murciélagos a veces no recuerdan la mordedura del mismo.

El periodo de incubación común en perros varía de 3 a 8 semanas, pero puede ser tan breve como 10 días. Clínicamente, la enfermedad en los perros se divide en las mismas tres fases de la rabia humana.

Diagnóstico de laboratorio

A. Antígenos o ácidos nucleicos del virus de la rabia

Los tejidos infectados con el virus de la rabia se identifican en la actualidad con mayor rapidez y precisión por medio de inmunofluorescencia o tinción con inmunoperoxidasa mediante anticuerpos monoclonales antirrabia. Por lo común una muestra de biopsia se toma de la piel del cuello en el nacimiento del pelo. Con frecuencia se emplean preparaciones para impresión de tejido cerebral o córnea.

Un diagnóstico patológico definitivo de rabia se basa en el hallazgo de los corpúsculos de Negri en el cerebro o la médula espinal. Son nítidamente demarcados, más o menos esféricos, de 2 a 10 µm de diámetro, y poseen una estructura interna característica con gránulos basófilos en una matriz eosinófila. Los corpúsculos de Negri contienen antígenos del virus de la rabia y se pueden demostrar mediante inmunofluorescencia. Tanto los corpúsculos de Negri como los antígenos del virus de la rabia generalmente se pueden encontrar en animales o humanos atacados de rabia o muertos por la infección, pero rara vez se encuentran en los murciélagos.

Se puede usar la reacción en cadena de la polimerasa acoplada a transcripción inversa para amplificar partes del genoma del virus de la rabia a partir del tejido cerebral fijado o no fijado. Aunque es poco frecuente como prueba de diagnóstico, la secuenciación de los productos amplificados permite identificar la cepa del virus infectante.

B. Aislamiento viral

El tejido disponible se inocula en el cerebro de un ratón lactante. La infección en los ratones produce encefalitis y muerte. Se examina el sistema nervioso central del animal inoculado en busca de los corpúsculos de Negri y los antígenos a la rabia. En laboratorios especializados se pueden inocular líneas celulares de ratones y de hámsters para crecimiento rápido (2 a 4 días) del virus de la rabia; esto es mucho más rápido que el aislamiento del virus en ratones. Un virus aislado se puede identificar mediante pruebas de anticuerpo fluorescente con antisero específico. El aislamiento del virus requiere tiempo para ser de utilidad en la toma de decisiones acerca de si se suministra la vacuna.

C. Serología

Los anticuerpos a la rabia en suero pueden detectarse mediante pruebas de inmunofluorescencia o Nt. Estos anticuerpos a veces se desarrollan lentamente en personas o animales infectados durante la evolución de la enfermedad, pero rápidamente después de la vacunación con vacunas derivadas de células. Los anticuerpos en el líquido cefalorraquídeo se producen en las personas infectadas por rabia, pero no en respuesta a la vacunación.

D. Observación del animal

Todos los animales que se consideran "rabiosos o sospechosos de padecer rabia" (cuadro 42-3) deben ser sacrificados de inmediato para examinar sus tejidos en el laboratorio. Otros, si están disponibles, deben mantenerse en observación durante 10 días. Si muestran algún signo de encefalitis, rabia o conducta extraña se les debe sacrificar humanitariamente y examinar los tejidos en el laboratorio. Si después de 10 días parecen normales, se debe tomar la decisión con base en el caso en consulta con el personal de salud pública.

Inmunidad y prevención

Sólo se conoce un tipo antigénico del virus de la rabia. Más de 99% de las infecciones en humanos y mamíferos que desarrollan síntomas inevitablemente terminan en muerte. La supervivencia demostrada después de la aparición de los síntomas de la rabia es sumamente rara. Por tanto, es indispensable administrar inmunización preventiva a las personas en gran riesgo, evaluar la naturaleza y riesgo de toda exposición y suministrar a las personas profilaxis después de la exposición si se estima que tal exposición es peligrosa (cuadro 42-3). Puesto que el tratamiento no beneficia después de iniciada la enfermedad, es importante comenzar con prontitud luego de la exposición. La profilaxis después de la exposición a rabia consiste en el lavado inmediato y exhaustivo con agua y jabón de todas las heridas, administración de la globulina inmune contra rabia y el esquema de inmunización antirrábico completo.

A. Fisiopatología de la prevención de la rabia mediante vacuna

Presuntamente el virus debe multiplicarse en el músculo, cerca del sitio de inoculación, hasta que la concentración del virus sea suficiente para lograr la infección del sistema nervioso central. Si se puede administrar con prontitud vacu-

na o anticuerpo, la replicación del virus disminuye y se puede impedir que invada el sistema nervioso central. La acción de los anticuerpos administrados como inmunidad pasiva es neutralizar algunos de los virus inoculados y descender la concentración de virus en el cuerpo para obtener un tiempo adicional y que la vacuna estimule la producción de anticuerpos y evite la entrada al sistema nervioso central.

B. Tipos de vacuna

Todas las vacunas para empleo humano sólo contienen virus de rabia inactivados. En EUA se dispone de tres tipos de vacuna, aunque en otros países se emplean otros tipos. Las tres vacunas contra la rabia disponibles en EUA son igualmente seguras y eficaces.

1. **Vacuna de células diploides humanas (VCDH):** para obtener una suspensión de virus de la rabia libre de proteínas extrañas y del sistema nervioso, el virus se adapta para crecer en células de fibroblastos humanos normales WI-38. La preparación del virus de la rabia se concentra mediante ultrafiltración y se inactiva con β -propiolactona. No se ha informado de reacción anafiláctica, neuroparalítica o encefalítica grave. Esta vacuna se emplea en EUA desde 1980.
2. **Vacuna adsorbida contra la rabia (VAR):** es una vacuna elaborada en células diploides derivadas de células de pulmón fetal del mono *rhesus* y autorizada en EUA en 1988. El virus de esta vacuna se inactiva con β -propiolactona y se concentra por adsorción a fosfato de aluminio.
3. **Vacuna purificada de células de embriones de pollo:** esta vacuna se prepara a partir de la cepa viral de la rabia Flury LEP fijada y cultivada en fibroblastos de pollo. Se inactiva con β -propiolactona y después se purifica mediante centrifugación fraccionaria. Se encuentra disponible en EUA desde 1997.
4. **Vacuna de tejido nervioso:** se elabora a partir de cerebros infectados de oveja, cabra o ratón y se emplea en muchas partes del mundo, incluso Asia. Tiene una potencia baja por dosis, y un tratamiento completo requiere hasta 23 inyecciones dolorosas. Produce sensibilización al tejido nervioso y encefalitis posvacunal (una enfermedad alérgica) con frecuencia significativa (0.05%). Las estimaciones de su eficacia en personas mordidas por animales rabiosos varían de 5 a 50%.
5. **Vacuna de embrión de pato:** esta vacuna se desarrolló para reducir al mínimo el problema de la encefalitis posvacunal. El virus de la rabia se hace crecer en huevos embrionados de pato. Las reacciones anafiláticas son poco frecuentes, pero la antigenicidad de la vacuna es baja, de modo que deben administrarse muchas dosis (16 a 25) para obtener una respuesta satisfactoria de anticuerpos después de la exposición ya no se produce.
6. **Virus vivos atenuados:** los virus vivos atenuados adaptados para crecer en embrión de pollo (p. ej., cepa Flury) se emplean para animales pero no para humanos. En ocasiones estas vacunas pueden ser causa de muerte por rabia en gatos o perros inyectados. El virus de la rabia crecido en diferentes cultivos de células animales también se puede emplear como vacuna para los animales domésticos.

Cuadro 42-3. Guía para la profilaxis de la rabia después de la exposición¹

Las siguientes recomendaciones sólo son una guía. Al aplicarlas, deben tenerse en cuenta la especie del animal implicado, las circunstancias de la mordedura u otras de la exposición, el estado de vacunación del animal y la presencia de rabia en la región. **Nota:** se debe consultar a las autoridades de salud pública locales o estatales si se tienen dudas respecto de la necesidad de profilaxis contra la rabia

Tipo de animal	Evaluación del animal	Tratamiento de la persona expuesta ²
Doméstico Perros y gatos	Sano y disponible para observación durante 10 días	Ninguno, salvo si el animal desarrolla síntomas de rabia
	Rabioso o sospechoso de rabia	Vacunar de inmediato
	Desconocido (se dio a la fuga)	Consultar a las autoridades de salud pública
Silvestre Zorrillos, mapaches, murciélagos, zorros, coyotes y otros carnívoros	Considerarlos como rabiosos a menos que se demuestre que el animal es negativo para rabia mediante pruebas de laboratorio	Considerar vacunación inmediata
Otros Ganado, roedores y lagomorfos (conejos y liebres)	Considerar individualmente. Se debe consultar a las autoridades de salud pública locales y estatales respecto de la necesidad de profilaxis contra la rabia. Las mordeduras de ardillas, hámsters, cobayos, ratas del desierto, marmotas, ratas, ratones, otros roedores, conejos y liebres casi nunca requieren profilaxis antirrábica	

¹Modificado de MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1999;48(RR-3):1.

²Todas las mordeduras y heridas deben lavarse de inmediato con agua y jabón.

Una vacuna viral recombinante experimental, que contiene el virus vacuna portador del gen de la glucoproteína de superficie del virus de la rabia, ha logrado inmunización satisfactoria en los animales después de administración oral. Esta vacuna puede ser valiosa en la inmunización de las especies que son reservorio en la vida silvestre y en los animales domésticos.

C. Tipos de anticuerpos a la rabia

- 1. Inmunoglobulina humana contra la rabia (IG-HR):** es una gammaglobulina preparada por fraccionamiento en frío con etanol de plasma humano hiperinmune. Es menor el número de reacciones a la inmunoglobulina humana contra la rabia que al suero antirrábico equino.
- 2. Suero antirrábico equino:** es un suero concentrado procedente de caballos hiperinmunizados con virus de la rabia. Se emplea en los países donde no se dispone de IGHR.

D. Profilaxis previa a la exposición

Está indicada para personas en gran riesgo de contacto con el virus de la rabia (trabajadores de laboratorios de investigación y de diagnóstico, espeleólogos) o con animales rabiosos (veterinarios, trabajadores de control animal y de vida silvestre). El objetivo es lograr una concentración de anticuerpos presuntamente protectora por medio de la administración de vacuna antes de cualquier exposición. Se recomienda que los títulos de anticuerpos de individuos vacunados se evalúen periódicamente y cuando sea necesario se administren reactivadores inmunes.

E. Profilaxis después de la exposición

Aunque algunos casos (de 0 a 5) de rabia en humanos en EUA más de 20 000 personas reciben algún tratamiento por posible exposición en heridas por mordedura. La decisión de administrar anticuerpos contra la rabia, vacuna contra

la rabia, o ambas, depende de varios factores: 1) naturaleza del animal que mordió (especie, estado de salud, doméstico o silvestre) y su estado de vacunación; 2) disponibilidad del animal para examen de laboratorio (todas las mordeduras de animal silvestre y de murciélago requieren inmunoglobulina contra rabia y vacuna); 3) existencia de rabia en el área; 4) forma de ataque (provocado o no provocado); 5) gravedad de la mordedura y contaminación por saliva del animal; y 6) recomendaciones de las autoridades de salud pública locales (cuadro 42-3). Los esquemas de profilaxis después de la exposición, que implican la administración de globulina inmune y vacuna antirrábica, derivan de los *Centers for Disease Control and Prevention* y de los departamentos estatales de salud pública.

Epidemiología

Se cree que la rabia es la décima causa más común de muerte en los humanos debido a infecciones. La rabia es enzoótica tanto en animales salvajes como domésticos. A nivel mundial, al menos se presentan 50 000 casos de rabia humana cada año; sin embargo, en muchos países los informes de casos de rabia son incompletos. Casi todas las muertes por rabia (> 99%) tienen lugar en países en desarrollo, y resulta que en Asia se dan más de 90% de las muertes por esta enfermedad. En estos países, donde la rabia canina aún es endémica, la mayor parte de los casos en humanos es por mordedura de perros rabiosos. Los niños de 5 a 15 años están particularmente en riesgo. Se suministra profilaxis después de la exposición a un estimado de 10 millones de personas al año.

En EUA, Canadá y Europa occidental, donde la rabia canina se ha controlado, los perros son causantes de muy pocos casos. Más bien la rabia humana se desarrolla por mordeduras de animales salvajes (especialmente zorrillos).

zorros, mapaches y murciélagos) o aparece en viajeros mordidos por perros en otras partes del mundo. El problema más serio para la ganadería en América Latina parece ser la rabia transmitida por murciélagos vampiro. El incremento de la rabia selvática en EUA y en algunos otros países desarrollados representa un riesgo mucho mayor para los humanos que los perros o gatos.

En primer lugar, como resultado del control exitoso de la rabia en perros domésticos, la incidencia de rabia en humanos en EUA bajó a menos de tres personas por año en el decenio de 1990-99.

El análisis antigénico con anticuerpos monoclonales y el análisis de secuencia de nucleótidos (genotipificación) ayudan a distinguir los virus de la rabia aislados de los diferentes reservorios animales. De 1990 a 2003, hubo casos diagnosticados de rabia humana en EUA, de los cuales se demostró que 26 (74%) eran debidos a un virus relacionado con murciélagos. Los cinco pacientes con rabia importada de otros países presentaban cepas relacionadas con perro.

Los mapaches constituyen un reservorio importante para la rabia en EUA y en la actualidad explican más de la mitad de todos los casos informados de animales rabiosos. Se estima que los mapaches rabiosos se introdujeron en la región media del Atlántico en el decenio de 1970-79 cuando se transportaron mapaches infectados procedentes del sureste de EUA hacia esa región para reponer las reservas de cacería. La rabia epizootica del mapache se ha diseminado tanto que ahora ya cubre la región oriental de EUA avanzando hacia Canadá.

Los murciélagos representan un problema especial debido a que pueden ser portadores del virus de la rabia en tanto que parecen sanos, excretan el virus en la saliva y lo transmiten a otros animales y al humano. En EUA entre los casos de rabia humana atribuidos a variantes relacionadas con murciélagos, alrededor de 70% los causaron el murciélago de pelo plateado y variantes de murciélago pipistrelle. Sin embargo, sólo dos casos se relacionaron con una historia de mordedura de murciélago, ya que la mayor parte de las exposiciones a murciélagos pasa inadvertidos. Las cuevas de los murciélagos pueden contener aerosoles de virus de la rabia y representan un riesgo alto para los espeleólogos que suelen habitar o visitar estos sitios. Los murciélagos frugívoros emigrantes existen en muchos países y son una fuente importante de infección para muchos animales y humanos. La rabia transmitida por medio de murciélagos puede ser un paso importante en la iniciación de periodos de enzootias terrestres en regiones nuevas. En Australia, considerada durante muchos años un continente libre de rabia, en 1996 se identificó la presencia de murciélagos frugívoros transmisores de virus de la rabia. Todas las personas mordidas por murciélagos deben someterse al esquema profiláctico después de la exposición a la rabia.

La transmisión de la rabia de un humano a otro es muy rara. El único caso comprobado implicó rabia transmitida por trasplante de córneas:—la córnea provenía de donadores que murieron por enfermedad del sistema nervioso central no diagnosticada, y los receptores murieron de rabia 50 a 80 días más tarde—. Teóricamente, la rabia podría transmitirse de la saliva de un paciente con rabia y por la exposición del personal que lo atiende, pero esta transmisión nunca se ha comprobado.

Tratamiento y control

No hay tratamiento satisfactorio para la rabia clínica. Los interferones, la ribavirina y otros fármacos no han mostrado efectos benéficos. El tratamiento sintomático puede prolongar la vida, pero el resultado es casi siempre mortal.

Históricamente, varios eventos cruciales contribuyeron al control de la rabia humana: el desarrollo de una vacuna humana contra la rabia (1885), el descubrimiento del corpúsculo diagnóstico de Negri (1903), el empleo de vacuna antirrábica para perros (decreto de 1940-49), la adición de inmunoglobulina contra la rabia al tratamiento de la vacunación posexposición (1954), el crecimiento del virus de la rabia en células cultivadas (1958), y el desarrollo de pruebas diagnósticas con anticuerpo fluorescente (1959).

La vacunación antes de la exposición es deseable para toda persona en gran riesgo de contacto con animales rabiosos, como veterinarios, personal al cuidado de animales, ciertos trabajadores de laboratorio y espeleólogos. A las personas que viajan a los países en desarrollo donde los programas de control de la rabia para animales domésticos no son óptimos se les debe brindar profilaxis antes de la exposición si planean estar durante más de 30 días. Sin embargo, la profilaxis previa a la exposición no elimina la necesidad de aplicar la posterior, en caso de que la exposición a la rabia tenga lugar.

Países aislados (p. ej., Gran Bretaña) que no tienen rabia nativa en sus animales salvajes pueden establecer procedimientos de cuarentena para perros y otras mascotas importadas. En los países donde existe la rabia en perros se deben eliminar los perros callejeros y hacer obligatoria la vacunación de perros y gatos mascotas. En los países donde existe la rabia en la vida salvaje y el contacto entre los animales domésticos, las mascotas y la vida silvestre es inevitable, se deben vacunar todos los animales domésticos y las mascotas.

En Europa, una vacuna oral de virus con glucoproteína recombinante rabia-vacuna (V-RG) demostró ser efectiva para el control de la rabia en zorros. Administrada en cebos, la vacuna oral se utiliza ya para reducir las epizootias de rabia en EUA, en regiones de vida salvaje.

ENFERMEDAD DE BORNA

La enfermedad de Borna, un padecimiento del sistema nervioso central, sobre todo de caballos y ovejas en ciertas áreas de Alemania, se manifiesta por anomalías conductuales que por lo común terminan en muerte. Los infiltrados celulares inflamatorios están presentes en el cerebro. El trastorno es inmunomediado.

El virus de la enfermedad de Borna (VEB) es el causante de la enfermedad, un virus con cubierta, no segmentado, de RNA de cadena negativa, miembro de la familia *Bornaviridae* (cuadro 42-4). Aunque es similar a los rhabdovirus y a los paramixovirus, es novedoso en que transcribe y replica su genoma en el núcleo y emplea el empalmado del RNA para regular la expresión del gen. El VEB no es citolítico pero es muy neurotrópico; establece infecciones persistentes. Hay un solo serotipo reconocido de VEB. Los títulos de anticuerpos neutralizantes en especies huésped por lo común son muy bajos.

Cuadro 42-4. Propiedades importantes de los bornavirus

Virión: esférico, 90 nm de diámetro
Genoma: RNA monocatenario, lineal, no segmentado, de sentido negativo, 8.9 kb, PM 3 millones
Proteínas: seis proteínas estructurales
Cubierta: presente
Duplicación: núcleo; sitio de maduración no identificado
Características sobresalientes:
Amplia variedad de huéspedes
Neurotrópico
Causa anormalidades neuroconductuales

Muchas especies pueden infectarse con bornavirus, incluido el humano. Los datos serológicos sugieren que el VEB puede relacionarse con enfermedades neuropsiquiátricas en el humano. Aún debe establecerse si el VEB es un factor etiológico en la fisiopatología de ciertas enfermedades mentales del humano.

INFECCIONES CON VIRUS LENTOS Y ENFERMEDADES POR PRIONES

Algunas enfermedades crónicas degenerativas del sistema nervioso central en humanos tienen como causa infecciones persistentes por virus clásicos, "lentos" o crónicos. Entre éstas se encuentran la panencefalitis esclerosante subaguda y la leucoencefalopatía multifocal progresiva. Otras enfermedades conocidas como las encefalopatías espongiformes transmisibles, (p. ej., enfermedad de Creutzfeldt-Jakob) al parecer son causadas por agentes transmisibles no convencionales denominados "priones" (cuadro 42-5). Las enfermedades neurológicas progresivas producidas por estos agentes podrían tener períodos de incubación de años antes que las manifestaciones clínicas de las infecciones sean evidentes (cuadro 42-5).

Infecciones por virus lentos

A. Visna

Los virus de visna y de la neumonía progresiva (maedi) son agentes estrechamente vinculados que producen infecciones lentas en las ovejas. Estos virus están clasificados como retrovirus (subfamilia *Lentivirinae*) (véase capítulo 44).

El virus de visna infecta todos los órganos del cuerpo de la oveja infectada; sin embargo, los cambios patológicos se limitan principalmente al cerebro, pulmones y sistema reticuloendotelial. Se desarrollan lesiones inflamatorias en el sistema nervioso central poco después de la infección, pero por lo general hay un período de incubación prolongado (meses a años) antes de que aparezcan los síntomas neurológicos observables. La evolución de la enfermedad puede ser rápida (semanas) o lenta (años).

Se pueden recuperar virus durante la vida del animal, pero la expresión viral se restringe *in vivo* de modo que sólo están presentes cantidades mínimas de virus infectan-

te. Durante las infecciones persistentes a largo plazo suceden variaciones antigénicas. En el gen estructural que codifica para las glucoproteínas de la cubierta viral tienen lugar muchas mutaciones. Los animales infectados desarrollan anticuerpos contra el virus.

B. Panencefalitis esclerosante subaguda

Es una enfermedad rara de adultos jóvenes, causada por el virus del sarampión, con desmielinización progresiva lenta del sistema nervioso central que termina con la muerte. Gran número de estructuras de nucleocápsides virales se producen en las neuronas y en las células gliales. Existe expresión restringida de los genes virales que codifican proteínas de la cubierta. En consecuencia, en las células nerviosas persistentemente infectadas el virus carece de las proteínas esenciales para la producción de partículas infectantes. Los pacientes con panencefalitis esclerosante subaguda muestran títulos altos de anticuerpo antisarampión, pero con frecuencia carecen del anticuerpo a la proteína M. La menor eficiencia de la transcripción del virus del sarampión en las células cerebrales diferenciadas es importante para mantener la infección persistente que conduce a la panencefalitis esclerosante subaguda.

C. Leucoencefalopatía multifocal progresiva

El virus JC, un miembro de la familia *Papovaviridae* (capítulo 43), es el agente etiológico de la leucoencefalopatía multifocal progresiva, una complicación del sistema nervioso central observada en algunas personas inmunosuprimidas. Alguna vez esta enfermedad fue sumamente rara, en la actualidad se observa en una proporción significativa (casi 5%) de los pacientes con SIDA. La desmielinización del sistema nervioso central de los pacientes con leucoencefalopatía multifocal progresiva resulta de la infección de los oligodendrocitos por poliomavirus.

Encefalopatías espongiformes transmisibles (enfermedades priónicas)

Ciertas enfermedades degenerativas del sistema nervioso central, como el kuru, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker e insomnio familiar fatal de los humanos; el *scrapie* de las ovejas, la encefalopatía transmisible del visón y la encefalopatía espongiforme bovina del ganado, presentan características patológicas similares. Estas enfermedades se han descrito como encefalopatías virales espongiformes subagudas. Los agentes causales no son virus convencionales; la infectividad se relaciona con material proteináceo desprovisto de cantidades detectables de ácido nucleico. Se emplea el término "prión" para designar esta nueva clase de agentes.

Los tipos diversos de priones parecen compartir un mecanismo común de patogénesis. Existen especies barrera para todas las encefalopatías espongiformes transmisibles, aunque algunos priones logran cruzar tales barreras.

Estos agentes presentan una resistencia poco común a los medios estándar de inactivación. Resisten el tratamiento con formaldehído (3.7%), urea (8 M), calor seco, ebullición, etanol (50%), proteasas, desoxicolato (5%) y radiación

Enfe
Pan
ese
Leu
mu
Enfe
Cre
Kur
Enfe
Visn
Scre
Ence
esp
bov
Ence
tran
Enfe
te

ióniz
quea
decil
ticia
ción
p
dades
cuand
otros
visos
rodeg
presen
longa
dad c
(sema
no se
no pr
los ag
interf
célula
no tie

A. Se
El scr
en dif
pie tr
oveja
La tra
les el
estudi
S
princi

Cuadro 42-5. Enfermedades por priones y por virus lentos

Enfermedad	Agente	Huéspedes	Período de incubación	Naturaleza de la enfermedad
Enfermedades en humanos				
Panencefalitis esclerosante subaguda	Variante del virus del sarampión	Humanos	2 a 20 años	Panencefalitis esclerosante crónica
Leucoencefalopatía multifocal progresiva	Poliomavirus virus	Humanos	Años	Desmielinización del sistema nervioso central
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	Prión	Humanos, chimpancés, monos	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Kuru	Prión	Humanos, chimpancés, monos	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Enfermedades en animales				
Visna	Retrovirus	Ovejas	Meses a años	Desmielinización del sistema nervioso central
Scrapie	Prión	Ovejas, cabras, ratones	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Encefalopatía espongiforme de los bovinos	Prión	Ganado bovino	Meses a años	Encefalopatía espongiforme
Encefalopatía transmisible del visón	Prión	Visones, otros animales	Meses	Encefalopatía espongiforme
Enfermedad de desgaste crónico	Prión	Ciervo mulo, alce	Meses a años	Encefalopatía espongiforme

ionizante. Sin embargo, son sensibles a fenol (90%), blanqueador casero, éter, NaOH(2 N), detergentes fuertes (dodecilsulfato de sodio 10%) y autoclave (1 h, 121 °C). El tiocianato de guanidina es muy eficaz en la descontaminación del equipo y los instrumentos médicos.

Existen varias características distintivas de las enfermedades causadas por estos agentes no convencionales. Aun cuando el agente etiológico se puede recuperar a partir de otros órganos, las enfermedades se confinan al sistema nervioso; los rasgos básicos de estas enfermedades son la neurodegeneración y los cambios espongiformes. Pueden presentarse placas amiloides. Un periodo de incubación prolongado (meses a decenios) precede el inicio de la enfermedad clínica y va seguido por patología crónica progresiva (semanas a años). Las enfermedades son siempre mortales, no se conocen casos de remisión o recuperación. El huésped no presenta respuesta inflamatoria ni inmunitaria (al parecer los agentes no son antigénicos), no se induce producción de interferón y no hay ningún efecto sobre la función de las células B o T del huésped. La inmunosupresión del huésped no tiene efecto sobre la patogenia de la enfermedad.

A. Scrapie

El scrapie muestra diferencias notables de susceptibilidad en diferentes especies animales. La susceptibilidad al scrapie transmitido experimentalmente varía de 0 a 80% en ovejas, en tanto que las cabras son casi 100% susceptibles. La transmisión del scrapie a ratones y hámsters, en los cuales el periodo de incubación es muy reducido, facilitó el estudio de la enfermedad.

Se puede recuperar tejido linfóide infectante desde el principio de la infección, pero títulos elevados del agente

sólo se encuentran en cerebro, médula espinal y ojo (que también son los únicos sitios donde se observan cambios patológicos). Los títulos máximos de infectividad se alcanzan en el cerebro mucho antes que aparezcan síntomas neurológicos. Un rasgo de la enfermedad es el desarrollo de placas amiloides en el sistema nervioso central de los animales infectados. Estas regiones representan acumulaciones de proteína fuera de las células; se tiñen con rojo Congo.

De los cerebros infectados con scrapie se ha aislado y purificado una proteína resistente a proteasa de peso molecular 27 a 30 kDa, designada como proteína del prión PrP. Las preparaciones que sólo contienen PrP sin ácido nucleico detectable son infectantes. La PrP se deriva de una proteína larga codificada por el huésped, la PrP^{Sc}, que es una versión alterada de una proteína celular normal (PrP^C). La proteína es una proteína de membrana fija a glucolípidos. La concentración de la PrP^{Sc} aumenta en los cerebros infectados conforme la proteína se hace resistente a la degradación. La susceptibilidad genética a la infección scrapie se relaciona con mutaciones puntuales en el gen PrP^C. Los ratones modificados genéticamente para estar desprovistos de PrP^C son resistentes al scrapie. Se ha propuesto un modelo convencional para la replicación del prión, en el cual la PrP^{Sc} forma un heterodímero con la PrP^C y se pliega nuevamente de modo que llega a ser parecida a la PrP^{Sc}. Se especula que las "cepas" de priones reflejan conformaciones diferentes de PrP^{Sc}. Todavía es incierto si esta proteína representa el elemento estructural indispensable del agente infectante o un producto patológico que se acumula como resultado de la enfermedad.

B. Encefalopatía espongiforme bovina y nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob

Es una enfermedad similar al *scrapie*, designada encefalopatía espongiforme bovina (EEB) o "enfermedad de las vacas locas"; surgió en el ganado bovino en 1986 en la Gran Bretaña. En este brote se pudo rastrear la causa hasta el empleo de alimento para ganado que contenía hueso contaminado en el esqueleto de ovejas infectadas por *scrapie* y esqueletos de bovino infectados con EEB. El empleo de este alimento para bovinos se prohibió en 1988. La epidemia de la "enfermedad de las vacas locas" tuvo su máximo alcance en Gran Bretaña, en 1993. Se estima que se infectó más de un millón de cabezas de ganado vacuno. La EEB también se ha observado en otros países europeos. En 1996 se identificó una variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) en el Reino Unido, que se presentó en personas jóvenes y tenía características patológicas peculiares similares a las de la EEB. En la actualidad, se acepta que un agente común causa las nuevas formas variantes de la ECJ y la EEB, lo cual indica que el nuevo agente EEB ha infectado a los humanos. En 2002, murieron 121 de las 129 personas a quienes se les diagnosticó la nueva variante de la ECJ en Inglaterra.

C. Kuru y enfermedad clásica de Creutzfeldt-Jakob

Dos encefalopatías espongiformes humanas son el kuru y la forma clásica de la ECJ. Los homogenizados de cerebro de pacientes transmitían estas dos enfermedades a primates no humanos. El kuru se presentaba únicamente en la región montañosa oriental de Nueva Guinea y se diseminó debido a las costumbres de canibalismo de los restos de muertos a manera de ritual. Desde el cese de tal práctica, la enfermedad desapareció. La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob se desarrolla gradualmente en humanos, con demencia progresiva, ataxia y mioclonos, y lleva a la muerte en 5 a 12 meses. La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob aparece con la frecuencia de un caso por millón de habitantes cada año en EUA y Europa y afecta a pacientes mayores de 50 años de edad. La incidencia estimada es menor de un caso por 200 millones para personas menores de 30 años de edad. Sin embargo, la nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, que puede vincularse con la EEB, afecta principalmente a las personas menores de 30 años de edad.

Dos formas familiares de ECJ son el síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker y el insomnio familiar fatal. Estas enfermedades son muy infrecuentes (10 a 15% de los casos de ECJ) y se deben a la transmisión de mutaciones del gen *PrP* de generación a generación.

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob iatrogénica se ha transmitido accidentalmente por preparaciones contaminadas de hormona de crecimiento de glándula hipófisis de cadáver humano, por trasplante de córnea, por instrumentos quirúrgicos contaminados y por injertos de duramadre de cadáver humano empleado para la reparación quirúrgica de lesiones craneales. Parece que los receptores de injertos de duramadre contaminada están en riesgo de desarrollar la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob cuando menos 16 años después de recibir el injerto. No existen datos sugestivos de que la transmisión de la ECJ se lleve a cabo mediante sangre o derivados de ésta.

En el tejido cerebral infectado con la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob se encuentra una proteína muy similar a la del *scrapie* PrP^{Sc}. Se puede especular que el agente de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob se derivó originalmente de ovejas infectadas por *scrapie* y se transmitió a humanos por ingestión de cerebro de oveja parcialmente cocido.

D. Enfermedad de desgaste crónico

Una enfermedad parecida al *scrapie*, denominada enfermedad de desgaste crónico, se encontró en el ciervo mulo y el alce en EUA. No hay evidencia de que sea transmitida a los humanos.

E. Enfermedad de Alzheimer

Existen algunas similitudes neuropatológicas entre la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y la de Alzheimer, incluso la aparición de placas amiloides. Sin embargo, la enfermedad no se ha transmitido en forma experimental a primates o roedores y el material amiloide del cerebro de los pacientes con enfermedad de Alzheimer no contiene la proteína PrP^{Sc}.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- El virus de la rabia se destruye rápidamente mediante:
 - A. Radiación ultravioleta
 - B. Calentando a 56 °C durante 1 h
 - C. Tratamiento con éter
 - D. Tratamiento con tripsina
 - E. Todas las anteriores
- Los priones se destruyen con facilidad por medio de:
 - A. Radiación ionizante
 - B. Formaldehído
 - C. Ebullición
 - D. Proteasas
 - E. Nada de lo anterior
- De cuál de las siguientes infecciones del sistema nervioso central es característica la presencia de neuronas de cuerpos de inclusión citoplásmicos, eosinofílicos, llamados cuerpos de Negri:
 - A. Enfermedad de Borna
 - B. Rabia
 - C. Encefalitis esclerosante subaguda
 - D. Nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob
 - E. Encefalitis posvacunal
- ¿Cuál de los siguientes enunciados acerca de las vacunas antirrábicas para uso en humanos es cierto?
 - A. Contienen virus de rabia atenuado, vivo
 - B. Contienen varios tipos antígenicos de virus de rabia
 - C. Pueden causar encefalitis alérgica cuando se preparan de tejido nervioso
 - D. Se pueden usar sólo para profilaxis preexposición
 - E. La vacuna de embrión de pato es altamente antígeno y sólo es necesaria una dosis
- Un varón de 22 años de edad reside en un pueblo pequeño cerca de Londres. Le gusta comer bistec. Manifiesta una enfermedad neurológica progresiva caracterizada por síntomas psiquiátricos, signos cerebelares y demencia. Se le diagnostica probable encefalopatía espongiforme bovina (EEB). Al parecer, el mismo agente causa la nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en humanos y la EEB. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones es cierta para ambas enfermedades?
 - A. La inmunosupresión del huésped es un factor de predisposición

- B. Es un trastorno neurológico degenerativo inmunomediado
- C. Hay un periodo de incubación largo (meses a años) desde el momento de la exposición hasta la aparición de los síntomas
- D. El agente sólo es aislable del sistema nervioso central de un huésped infectado
- E. La respuesta del interferón persiste durante el periodo de incubación
- F. Hay una respuesta de anticuerpo de título alto hacia la proteína PrP^{Sc} del agente
- G. Todos los enunciados anteriores son ciertos
- 6. El virus de la rabia tiene una amplia variedad de huéspedes y la capacidad de infectar a los animales de sangre caliente, incluyendo a los humanos. ¿Cuál enunciado acerca de la epidemiología de la rabia humana es cierto?
 - A. En África se da la mayor cantidad de muertes por rabia
 - B. Las mordeduras de perro causan la mayor parte de los casos de rabia humana en Inglaterra
 - C. Los animales domésticos son la fuente de la mayor parte de casos de rabia humana en EUA
 - D. La transmisión de rabia de un humano a otro pone en grave riesgo al personal médico
 - E. La rabia de los murciélagos causó la mayor parte de los casos de rabia en EUA en el decenio de 1990-99
- 7. El agente infeccioso del *scrapie* se puede detectar en placas amiloides en cerebros infectados de ovejas y hámsters. ¿Mediante cuál de los siguientes tipos de ácidos nucleicos se caracteriza el genoma del agente infeccioso?
 - A. RNA monocatenario de sentido negativo
 - B. RNA interferente y pequeño, el RNA infeccioso conocido más pequeño
 - C. Copia de DNA de genoma de RNA, integrada en DNA mitocondrial
 - D. DNA circular, de una sola cadena
 - E. Ácido nucleico no detectable
- 8. Un varón de 49 años de edad visitó al neurólogo después de dos días de dolor creciente en el brazo derecho y parestesias. El neurólogo diagnosticó una neuropatía atípica. Los síntomas se incrementaron y estuvieron acompañados de espasmos de la mano y diaforesis en el lado derecho de la cara y el tronco. El paciente fue admitido al hospital un día después de presentar disfagia, hipersalivación, agitación y espasmo muscular generalizado. Las pruebas de signos vitales y sangre resultaron normales, pero en horas el paciente presentó confusión. El neurólogo sospecha que sea rabia. Se administraron inmunoglobulina antirrábica, vacuna y aciclovir. Al día siguiente se le colocó ventilación mecánica al paciente. Se produjo insuficiencia renal y el sujeto murió tres días después. Las pruebas de rabia resultaron positivas. La esposa del paciente informó que su esposo no había sido mordido por ningún perro o animal salvaje. La explicación más probable para el fracaso del tratamiento es:
 - A. Los resultados de las pruebas de rabia fueron falsos positivos y el paciente no tenía rabia
 - B. El tratamiento se inició después del inicio de los síntomas clínicos de rabia
 - C. La vacuna se dirigió contra la rabia de perro y el paciente estaba infectado con rabia de murciélago
 - D. La inmunoglobulina antirrábica no debió haber sido administrada, ya que interfirió con la vacuna
 - E. Los interferones —y no el régimen de tratamiento administrado— son el tratamiento de elección una vez que se manifiestan los síntomas de rabia

Respuestas: 1 = E; 2 = E; 3 = B; 4 = C; 5 = C; 6 = E; 7 = E; 8 = B

REFERENCIAS

- Andrews NJ *et al.*: Deaths from variant Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 2003;361:751.
- Compendium of animal rabies prevention and control. 2003. National Association of State Public Health Veterinarians, Inc. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2003;52(RR-5):1.
- de Mattos CA, de Mattos CC, Rupprecht CE: *Rhabdoviruses*. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Human rabies prevention—United States, 1999. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1999;48(RR-1):1.
- Rabies vaccines: WHO position paper. *Weekly Epidemiol Record* 2002;77:109.
- Rutala WA, Weber DJ: Creutzfeldt-Jakob disease: Recommendations for disinfection and sterilization. *Clin Infect Dis* 2001;32:1348.
- Smith JS, Orciari LA, Yager PA: Molecular epidemiology of rabies in the United States. *Semin Virol* 1995;6:387.
- Stacheli P *et al.*: Epidemiology of Borna disease virus. *J Gen Virol* 2000;81:2123.

Virus oncogénicos humanos

Los virus son factores etiológicos para el desarrollo de varios tipos de tumores humanos, incluyendo a dos de gran importancia a nivel mundial —cáncer cervicouterino y cáncer hepático. Por lo menos 15% de todos los tumores humanos en el mundo tienen una causa viral. Los virus que se relacionan de manera más estrecha con cánceres humanos se listan en el cuadro 43-1, e incluyen a los papilomavirus, virus Epstein-Barr, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C y dos retrovirus humanos; además de varios virus candidatos como carcinógenos para el hombre. Muchos virus pueden producir tumores en animales, ya sea como una consecuencia de la infección natural, o bien después de la inoculación experimental.

Los virus animales se estudian para entender cómo una cantidad limitada de información genética (uno o pocos genes virales) puede alterar profundamente el comportamiento del crecimiento de las células, hasta convertir una célula normal en una célula neoplásica. Estos estudios revelan aspectos anteriormente desconocidos y permiten conocer los mecanismos de regulación del crecimiento en células normales. Los virus tumorales son agentes que pueden producir tumores cuando infectan a animales permisibles apropiados. Muchos estudios se llevan a cabo utilizando células animales cultivadas en lugar de animales intactos, ya que así es posible analizar los eventos que tienen lugar a nivel celular y subcelular. En estas células cultivadas, los virus tumorales pueden causar "transformación". No obstante, los estudios animales son esenciales para estudiar muchos pasos de la carcinogénesis, incluyendo las respuestas complejas del huésped a la formación del tumor.

Estudios con virus tumorales con RNA evidenciaron la participación de oncogenes celulares en la neoplasia; de igual forma, los virus tumorales con DNA condujeron a la determinación de la función de genes supresores de tumores. Estos descubrimientos revolucionaron la biología del cáncer y proporcionaron el marco conceptual para la base molecular de la carcinogénesis.

ASPECTOS GENERALES DE LA CARCINOGENESIS VIRAL

Los principios de la carcinogénesis viral se resumen en el cuadro 43-2.

Tipos diversos de virus tumorales

Al igual que otros virus, los virus tumorales se encuentran dentro de las diferentes familias, de acuerdo con el tipo de nucleico de su genoma y las características específicas de sus viriones. Los virus tumorales mejor caracterizados poseen un genoma de DNA o generan un genoma de DNA después de la infección de las células de virus de la hepatitis C es una excepción).

Los virus tumorales con DNA se clasifican dentro de los grupos papilomavirus, poliomavirus, herpesvirus, hepadnavirus y poxvirus. Los virus tumorales con DNA codifican oncoproteínas virales que son importantes para la replicación viral, aunque también algunas veces el control del crecimiento celular en el huésped.

Cuadro 43-1. Relación de algunos virus con cánceres humanos¹

Familia de virus	Virus	Cáncer humano
<i>Papillomaviridae</i>	Papilomavirus humanos	Tumores benignos Cáncer de células escamosas Cáncer de cérvix
<i>Herpesviridae</i>	Virus Epstein-Barr	Cáncer nasofaríngeo Linfoma de Burkitt africano Linfomas de células B
<i>Hepadnaviridae</i>	Virus de la hepatitis B	Cáncer hepatocelular
<i>Retroviridae</i>	Virus LCTH del adulto	Leucemia de células T del adulto
	Virus de la inmunodeficiencia humana	Malignancias asociadas con el SIDA
<i>Flaviviridae</i>	Virus de la hepatitis C	Cáncer hepatocelular

¹ Los virus tumorales humanos candidatos incluyen a herpesvirus humano 8, tipos adicionales de papiloma y los poxvirus S44, JC y BK.

Cuadro 43-2. Principios de la carcinogénesis viral¹

1. Los virus pueden causar cáncer en animales y humanos
2. Los virus tumorales frecuentemente producen infecciones persistentes en los huéspedes naturales
3. Los factores intrínsecos del huésped son determinantes importantes de la tumorigénesis inducida por virus
4. Los virus pocas veces son carcinógenos completos
5. Las infecciones virales son más comunes que la formación de tumores relacionada con virus
6. Suelen transcurrir periodos de latencia muy largos entre la infección viral inicial y la aparición del tumor
7. Las cepas virales pueden diferir en cuanto a potencial oncogénico
8. Los virus pueden actuar como agentes carcinogénicos directos o indirectos
9. Los virus oncogénicos modulan las vías del control celular de las células huésped
10. Los modelos animales pueden revelar mecanismos de carcinogénesis viral
11. Generalmente están presentes marcadores virales en las células tumorales
12. Un virus se puede relacionar con más de un tipo de tumor

¹Reproducido de Butel JS: Viral carcinogenesis: revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carcinogenesis* 2000;21:405.

La mayoría de los virus tumorales con RNA pertenece a la familia retrovirus. Los retrovirus portan una polimerasa dependiente del RNA (transcriptasa reversa) que construye una copia de DNA del genoma de RNA del virus. La copia de DNA (provirus) se integra después al DNA de la célula huésped infectada; y es a partir de esta copia de DNA integrada que todas las proteínas se traducen.

Los virus tumorales con RNA son de dos tipos generales en relación con la inducción de tumores. Los virus altamente oncogénicos (transformadores directos) por tan un oncogén de origen celular. Los virus con menos potencial oncogénico (transformadores lentos) no contienen un oncogén e inducen leucemias, después de periodos de incubación muy largos, a través de mecanismos indirectos. El único retrovirus causante de cáncer conocido en humanos actúa indirectamente: el virus de la hepatitis C, un flavivirus que no genera un provirus, sino que al parecer induce cáncer de manera indirecta.

Carcinogénesis de etapas múltiples

La carcinogénesis es un proceso llevado a cabo mediante múltiples pasos; es decir, deben suceder múltiples cambios genéticos para convertir una célula normal en una maligna. Ya se identificaron etapas intermedias designadas con términos como "inmortalización", "hiperplasia" y "preneoplasia". Los tumores suelen desarrollarse lentamente durante un periodo muy largo. La historia natural de los cánceres humanos y animales sugiere un proceso de evolución celular mediante etapas múltiples, que probablemente incluye la selección repetida de células no comunes que poseen cierta

ventaja de crecimiento selectivo. El número de mutaciones subyacentes a este proceso se estima que varía de 3 a 8. Las observaciones experimentales sugieren que la activación de múltiples oncogenes celulares y la inactivación de genes supresores de tumores participan en la evolución de tumores, con o sin la intervención de un virus.

Al parecer, un virus tumoral generalmente actúa como cofactor, proporcionando sólo algunos de los pasos requeridos para generar células malignas. Los virus son necesarios, mas no suficientes, para el desarrollo de tumores con etiología viral; suelen actuar como iniciadores del proceso neoplásico y pueden hacerlo mediante mecanismos diferentes.

Interacciones de los virus tumorales con el huésped

A. Infecciones persistentes

La patogénesis de una infección viral y la respuesta del huésped son un aspecto fundamental para comprender cómo se puede originar cáncer a partir de tal suceso. Los virus tumorales conocidos establecen infecciones persistentes a largo plazo en humanos; debido a las diferencias de la susceptibilidad genética individual y a las respuestas inmunes del huésped, los niveles de replicación viral y tropismo tisular pueden variar de una persona a otra. Aun cuando muy pocas células del huésped se encuentren infectadas en cualquier momento, la cronicidad de la infección representa una oportunidad a largo plazo para que un evento inusual se suscite, permitiendo la sobrevivencia de una célula cuyos mecanismos de control del crecimiento ya fueron modificados por el virus infectante.

B. Respuestas inmunes del huésped

Los virus que establecen infecciones persistentes deben evitar ser detectados y reconocidos por el sistema inmune del huésped, que pondría fin a la infección. Ya se identificaron las diferentes estrategias de evasión de los virus, incluyendo la expresión restringida de genes virales, lo cual confiere a las células infectadas cierta "invisibilidad" ante el sistema inmune (p. ej., virus Epstein-Barr en las células B); sitios de infección relativamente inaccesibles para el sistema inmune (p. ej., virus papiloma humano en epidermis); mutación de antígenos virales, lo cual permite escapar del reconocimiento de anticuerpos y células T (p. ej., virus de la inmunodeficiencia humana); modulación de las moléculas clase I del complejo principal de histocompatibilidad del huésped (p. ej., adenovirus, citomegalovirus); inhibición del procesamiento de antígenos (p. ej., virus Epstein-Barr); e infección y supresión de células inmunes esenciales (p. ej., virus de la inmunodeficiencia humana).

Se piensa que los mecanismos de vigilancia inmunitaria del huésped eliminan células neoplásicas aisladas que pueden originarse en individuos normales infectados con virus cancerosos; no obstante, si el huésped se encuentra inmunosuprimido, las células cancerosas pueden proliferar y escapar del control inmunitario del huésped. Los pacientes receptores de órganos trasplantados inmunosuprimidos e individuos infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tienen mayor riesgo para desarrollar linfomas relacionados con el virus Epstein-Barr y enfermedades re-

lacionadas con papilomavirus humanos. Es posible que la variación de las respuestas inmunitarias individuales contribuyan a una mayor susceptibilidad a presentar tumores inducidos por virus en sujetos normales.

C. Mecanismos de acción de los virus oncogénicos humanos

Los virus tumorales median cambios del comportamiento celular a través de una cantidad limitada de información genética. Existen dos patrones generales mediante los cuales esto se logra: el virus tumoral introduce en la célula un "gen transformador" nuevo (acción directa); o bien, el virus altera la expresión de un gen o genes celulares preexistentes (actuación indirecta). En cualesquiera de ambos casos, la célula pierde el control de la regulación normal de los procesos de crecimiento.

Por lo general, los virus no se comportan como carcinógenos completos; es decir, además de los cambios mediados por las funciones virales, son necesarias otras alteraciones para incapacitar las múltiples vías reguladoras y centros de control de las células normales, para así lograr la transformación completa de la célula. No existe un único modo de transformación dentro del proceso de carcinogénesis viral; a nivel molecular, los mecanismos oncogénicos de los virus tumorales humanos son muy diversos.

La transformación celular se puede definir como un cambio hereditario y estable del control del crecimiento de células en cultivo. Ningún grupo de características distingue de manera invariable a las células transformadas de aquellas normales. En la práctica, la transformación se reconoce a través de la adquisición de alguna propiedad de crecimiento por una célula hija que la célula progenitora no posee. La transformación a un fenotipo maligno se reconoce mediante la formación de tumores cuando se inyectan células transformadas en animales de experimentación apropiados.

Los virus tumorales de acción indirecta no tienen la capacidad para transformar células en cultivo.

D. Susceptibilidad celular a infecciones virales

A nivel celular, las células huésped son permisivas o no permisivas de la replicación de un virus particular. Las células permisivas toleran el crecimiento y la producción virales del virus progenitor; las células no permisivas no lo hacen. Especialmente en el caso de virus con DNA, las células permisivas no se transforman a menos que el ciclo reproductivo viral, que normalmente culmina con la muerte de la célula huésped, se bloquee de alguna manera; en cambio, las células no permisivas sí se pueden transformar. Por el contrario, una propiedad característica de los virus tumorales con RNA es que no son letales para las células donde se replican. Las células que son permisivas para un virus pueden ser no permisivas para otro.

No todos los tipos celulares naturales del huésped son susceptibles de replicación viral o transformación, o ambas. La mayoría de los virus tumorales muestran una marcada especificidad tisular, una propiedad que probablemente refleja la presencia variable de receptores de superficie para el virus, así como también refleja la capacidad del virus para causar infecciones locales *versus* infecciones disemi-

nadas, o bien, la necesidad de factores intracelulares para la expresión génica viral.

Algunos virus se relacionan con un solo tipo tumoral, en tanto que otros se relacionan con tipos tumorales múltiples. Estas diferencias reflejan el tropismo sobre tejidos específicos de los virus.

E. Retención del ácido nucleico del virus tumoral en una célula huésped

La estabilidad del cambio genético de célula normal a célula neoplásica requiere la retención de los genes virales en la célula. Muy a menudo, mas no siempre, esto se logra por medio de la integración de ciertos genes virales al genoma de la célula huésped. En el caso de los virus tumorales con DNA, una porción del DNA del genoma viral se integra al cromosoma de la célula huésped. Algunas veces, las células tumorales conservan copias episomales del genoma viral. En el caso de los retrovirus, la copia proviral de DNA que proviene del RNA viral se integra al DNA de la célula huésped. Las copias de RNA del genoma del virus de la hepatitis C no se integran, sólo son conservadas en el interior de las células tumorales.

En algunos sistemas virales, las células transformadas por el virus podrían liberar factores de desarrollo que afectan al fenotipo de células vecinas no infectadas, originando de esta manera a la formación de tumores. También es posible que cuando las células tumorales retengan mutaciones genéticas durante el desarrollo del tumor, el mantenimiento de genes virales que promueven la iniciación de tumor podría ser innecesario y perderse de algunas células.

RETROVIRUS

Los retrovirus contienen un genoma de RNA y una DNA polimerasa dirigida por RNA (transcriptasa reversa). Los virus tumorales con RNA de esta familia principalmente generan tumores en los sistemas retículoendotelial y hematopoyético (leucemias, linfomas), o en el tejido conectivo (sarcomas).

En el cuadro 43-3 se listan las propiedades más importantes de los retrovirus.

Estructura y composición

El genoma del retrovirus consiste en dos subunidades antárticas de RNA de cadena sencilla, de sentido positivo, cada una de 7 a 11 kb de magnitud. La transcriptasa reversa presente en las partículas virales es un componente estructural para la replicación viral.

Las partículas de retrovirus contienen a la nucleocleoproteína helicoidal dentro de una cápside icosaédrica, la cual está rodeada por una membrana externa (cubierta) que contiene glucoproteínas y lípidos. Los antígenos específicos de tipo o específicos de subgrupo representan a las glucoproteínas de la cubierta viral, que son codificadas por el gen *env*; los antígenos específicos de grupo forman parte del centro del virión, y son codificados por el gen *gag*.

Se conocen tres clases morfológicas de partículas intracelulares de los retrovirus (así como una forma intracel-

Cuadro 43-3. Propiedades importantes de los retrovirus

Virión: esférico, 80 a 110 nm de diámetro, nucleoproteína helicoidal dentro de una cápside icosaédrica
Composición: RNA (1%), proteínas (alrededor de 65%), lípidos (cerca de 30%), carbohidratos (alrededor de 4%)
Genoma: RNA de cadena única, lineal, sentido positivo, 5 a 8 kbp, diploide, total 3 a 6 millones de peso molecular (PM); puede ser defectuoso; puede portar oncogenes
Proteínas: enzima transcriptasa reversa dentro de los viriones
Cubierta: presente
Replicación: la transcriptasa reversa elabora una copia de DNA a partir del RNA genómico; el DNA (provirus) se integra al cromosoma celular; el provirus es moderador del RNA viral
Maduración: los viriones geman a partir de la membrana plasmática
Características sobresalientes:
La infección no mata a las células
Pueden transducir oncogenes celulares, pueden activar la expresión de genes celulares
Los provirus permanecen en el interior de las células de manera indefinida y casi nunca se expresan
Muchos miembros de esta familia son virus tumorales

lular). Estas partículas son un reflejo simple de los diferentes procesos de morfogénesis que experimentan diversos retrovirus. En la figura 43-1 se muestran algunos ejemplos de cada una.

Las partículas tipo A sólo se localizan intracelularmente y parecen no ser infecciosas. Las partículas tipo A intracitoplásmicas, 75 nm de diámetro, son precursoras de los virus tipo B extracelulares, en tanto que las partículas tipo A intracisterna de Golgi, 60 a 90 nm de diámetro, son entidades desconocidas aún. Los virus tipo B poseen un diámetro de 100 a 130 nm y contienen un nucleóide excéntrico. El prototipo de este grupo es el virus del tumor mamario en ratones, el cual se presenta en cepas de "cáncer mamario de alto riesgo" de ratones endogámicos y se localiza en cantidades particularmente grandes de tejido mamario y leche de lactancia. Se transmite a los ratones lactantes, en quienes la incidencia de adenocarcinoma mamario subsecuente es muy alta. Los virus tipo C son el grupo más grande de retrovirus. Las partículas poseen un diámetro de 90 a 110 nm, y los nucleóides electrodensos están ubicados en el centro. Los virus tipo C pueden existir como entidades exógenas o endógenas (véase después); los lentivirus también son virus tipo C. Finalmente, los retrovirus tipo D, aún no caracterizados por completo, son partículas de 100 a 120 nm de diámetro que contienen un nucleóide excéntrico y en sus superficies muestran proyecciones a manera de astillas, más cortas que aquellas observadas en las partículas tipo B.

Clasificación

A. Géneros

La familia Retroviridae se divide en siete géneros: *Alfarretrovirus* (que contiene virus de leucosis y sarcoma aviario,

Betarretrovirus (virus tumoral mamario de ratón), *Gammaretrovirus* (virus de sarcoma y leucemia de mamífero), *Deltaretrovirus* (virus linfotrópicos T humanos), *Epsilon-retrovirus* (virus de pescado), *Spumavirus* (que agrupa a aquellos virus capaces de causar degeneración "espumosa" de las células inoculadas, pero que no se relacionan con un proceso) y *Lentivirinae* (que agrupa agentes capaces de causar infecciones crónicas con daño neurológico progresivo, incluyendo al virus de la inmunodeficiencia humana: capítulo 44).

La consideración posterior de los retrovirus se puede organizar en varias formas dependiendo de sus propiedades morfológicas, biológicas y genéticas. Como se describió antes, los retrovirus se pueden agrupar morfológicamente (oncovirus tipo B, C y D); la gran mayoría de los aislados muestran características tipo C.

B. Huésped de origen

Los retrovirus se aislaron virtualmente de todas las especies de vertebrados. La mayoría de los virus de un tipo particular se aíslan de una sola especie, aunque pueden existir infecciones naturales que crucen barreras y se presenten en especies diferentes. Las determinantes antigénicas específicas de cada grupo, localizadas en la proteína interna principal (nucleóide), son compartidas por los virus de huéspedes de la misma especie. Todos los virus de mamíferos se relacionan más estrechamente entre sí que con aquellos que infectan especies de aves.

Los virus tumorales con RNA que más se han estudiado de manera experimental son los virus sarcoma de pollo y ratones, así como los virus de leucemia de ratones, gatos, pollos y humanos.

C. Exógenos o endógenos

Los retrovirus exógenos se diseminan horizontalmente y se comportan como agentes infecciosos típicos. Inician la infección y la transformación sólo después del contacto. A diferencia de los virus endógenos, localizados en todas las células de los individuos de una especie en particular, las secuencias de genes de virus exógenos se identifican únicamente en células infectadas. Al parecer todos los retrovirus patógenos son exógenos.

Los retrovirus pueden también transmitirse verticalmente a través de la línea germinal. La información genética viral, que es una parte constante de la constitución genética de un microorganismo, se designa como "endógena". Un provirus retroviral integrado se comporta como parte del grupo de genes celulares, por lo que se somete al control regulador intrínseco de la célula. Este control celular generalmente tiene como consecuencia la represión parcial o completa de la expresión génica viral; su localización dentro del genoma celular y la presencia de factores celulares de transcripción apropiados determinan en gran parte si (y cuándo) se activará la expresión viral. En el caso de las células normales es común observar el mantenimiento de la infección viral endógena en una forma silenciosa durante largos periodos.

Muchos vertebrados, incluyendo al ser humano, poseen múltiples copias de secuencias endógenas de RNA viral. Las secuencias virales endógenas parecen no ofrecer ningún beneficio al animal que las contiene; sin embargo, recientemente se descubrió que los provirus endógenos de

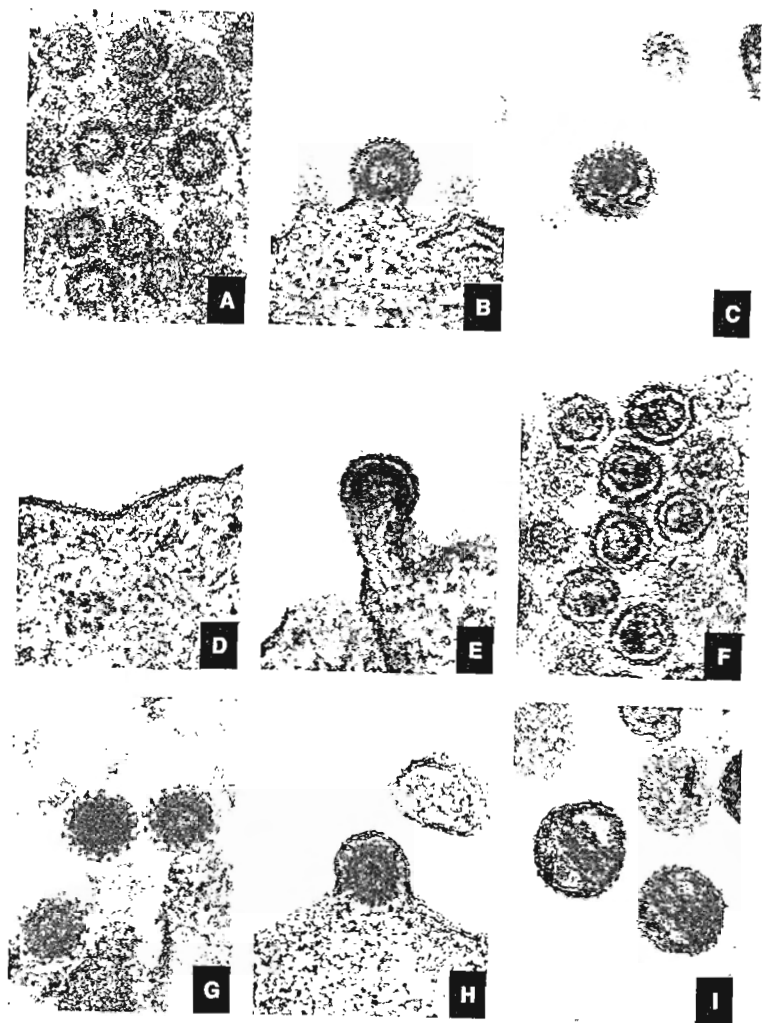


Figura 43-1. Morfología comparativa de los retrovirus tipos A, B, C y D. **A:** partículas tipo A intracitoplásmicas (representando un precursor inmaduro de un virus tipo B en gemación). **B:** virus tipo B en gemación. **C:** virus tipo B extracelular, maduro. **D:** ausencia de una forma intracitoplásmica morfológicamente reconocible de un virus tipo C. **E:** virus tipo C en gemación. **F:** virus tipo C extracelular, maduro. **G:** partícula tipo A intracitoplásmica (representando la forma precursora inmadura de un virus tipo D). **H:** virus tipo D en gemación. **I:** virus tipo D extracelular, maduro. Todas las micrografías se amplificaron $\times 87\,000$, corresponden a cortes muy delgados teñidos con doble tinción utilizando acetato de uranilo y citrato de plomo. (Cortesía de D. Fine y M. Gonda).

virus promotores de tumores mamarios portados por cepas endogámicas de ratones expresan actividad superantigénica que influye en el repertorio de células T de los animales.

Los virus endógenos por lo general no son patógenos para sus animales huéspedes; no producen enfermedad y no tienen la capacidad para generar carcinogénesis de las

células en cultivo. (Existen ejemplos de enfermedades causadas por la replicación de virus endógenos en cepas endogámicas de ratones).

Los rasgos más relevantes de los virus endógenos se pueden resumir de la manera siguiente: 1) las copias de DNA de los genomas de virus tumorales con RNA (retrovirus) se

insertan de manera covalente en el DNA celular y están presentes en todas las células somáticas y germinales del huésped; 2) los genomas virales endógenos se transmiten genéticamente de las células progenitoras a las células hijas; 3) el estado integrado somete los genomas virales endógenos al control genético de la célula huésped; y 4) se puede inducir la replicación de virus endógenos, ya sea de manera espontánea o mediante tratamiento con factores extrínsecos (químicos).

D. Espectro de huéspedes

La presencia o ausencia de un receptor de superficie celular apropiado es una determinante mayor del espectro de huéspedes de un retrovirus. La infección inicia por medio de la interacción entre la glucoproteína de la cubierta viral y un receptor de la superficie de la célula huésped. Los virus ecotrópicos infectan y se replican únicamente en células de animales de las especies huéspedes originales. Los virus anfitrópicos muestran un amplio espectro de huéspedes (son capaces de infectar células no sólo del huésped natural, sino también de especies heterólogas), ya que reconocen un receptor de distribución extensa entre diversas especies. Los virus xenotrópicos se pueden replicar en algunas células heterólogas (extrañas), mas no en células del huésped natural. Muchos virus endógenos muestran un espectro xenotrópico.

E. Contenido genético

Los retrovirus poseen un contenido genético simple, aunque existe cierta variación en el número y tipo de genes que contienen. La composición genética de un virus influye en sus propiedades biológicas. La estructura genómica es una manera útil de categorizar a los virus tumorales con RNA (figura 43-2).

Los virus estándar que generan leucemia (*Alfavirus* y *Gammaretrovirus*) contienen genes necesarios para la replicación viral: *gag*, que codifica las proteínas del centro (antígenos específicos de grupo); *pro*, que codifica una enzima proteasa; *pol*, que codifica a la enzima transcriptasa reversa (polimerasa); y *env*, que codifica las glucoproteínas que forman las proyecciones de la cubierta de la partícula viral. El orden de los genes en todos los retrovirus es 5'-*gag-pol-env*-3'.

Algunos virus, ejemplificados por los retrovirus humanos *Deltaretrovirus* y *Lentivirus*, contienen genes adicionales que suceden en orden al gen *env*. Uno de ellos es un gen regulador de transactivación (*tac* o *tar*), el cual codifica una proteína no estructural que altera la eficiencia de transcripción o traducción de otros genes virales. Los lentivirus, incluyendo al virus de la inmunodeficiencia humana, poseen un genoma más complejo y contienen varios genes accesorios adicionales (capítulo 44).

Los retrovirus que poseen cualquiera de estas dos estructuras genómicas serán competentes para la replicación (en células apropiadas). Debido a que carecen de un gen de transformación (*onc*), no tienen la capacidad para inducir la transformación maligna de las células en cultivos tisulares; sin embargo, sí son capaces de transformar a las células precursoras de tejidos hematopoyéticos *in vivo*.

Los retrovirus transformadores directos portan un gen *onc*. Los genes transformadores portados por varios virus

tumorales con RNA representan genes celulares que han sido apropiados para esos virus en alguna época pasada lejana y se incorporaron a sus genomas (figura 43-2).

Tales virus son muy oncogénicos en huéspedes animales apropiados y pueden transformar células en cultivo. Con muy pocas excepciones, la adición del DNA celular da como resultado la pérdida de porciones del genoma viral; como consecuencia, los virus promotores de sarcoma generalmente muestran una replicación defectuosa, y el virus progenitor se produce sólo en presencia de virus auxiliares. Los virus auxiliares, por lo general, son otros retrovirus (virus promotores de leucemia), que se pueden recombinar de varias maneras con los virus defectuosos. Estos retrovirus transformadores defectuosos han sido el origen de muchos oncogenes celulares identificados en la actualidad.

F. Potencial oncogénico

Los retrovirus que contienen oncogenes son altamente oncogénicos. A veces se les refiere como agentes de "transformación aguda", puesto que inducen la formación de tumores *in vivo* después de periodos de latencia muy breves y rápidamente inducen la transformación morfológica maligna de las células *in vitro*. Los virus que no portan un oncogén poseen un potencial oncogénico mucho menor. La enfermedad (generalmente de células sanguíneas) aparece después de un periodo largo de latencia (es decir, son agentes de "transformación lenta"); las células cultivadas no sufren transformación.

En poco tiempo, la transformación neoplásica causada por retrovirus es la consecuencia final de un gen celular que normalmente se expresa a niveles bajos, regulada muy cuidadosamente, que después se activa y expresa de manera constitutiva. En el caso de los virus de transformación aguda, el gen celular se inserta mediante recombinación en el genoma viral y después se expresa como un gen viral bajo el control del promotor viral. En el caso de los virus inductores de leucemia, el promotor viral o el elemento facilitador se inserta adyacente, o cerca, al gen celular dentro del cromosoma celular.

Replicación de los retrovirus

En la figura 43-3 se muestra un perfil esquemático de un ciclo típico de replicación retroviral. El gen *pol* codifica la única polimerasa (transcriptasa reversa), proteína que tiene cuatro actividades enzimáticas (proteasa, polimerasa, RNasa H e integrasa). Después que las partículas virales se adsorben y penetran las células huésped, el RNA viral sirve como un moderador de la síntesis del DNA viral a través de la acción de la enzima viral transcriptasa reversa, funcionando como un DNA polimerasa dependiente de RNA. Mediante un proceso complejo, las secuencias de ambos extremos del RNA viral se duplican, formando así la repetición terminal larga localizada en cada extremo del DNA viral (figura 43-4). Las repeticiones terminales largas se encuentran únicamente en el DNA viral. El DNA viral recién formado se integra al DNA de la célula huésped como un provirus. La estructura del provirus se mantiene constante, pero su integración al genoma de la célula huésped puede suceder en diversos sitios. La orientación altamente

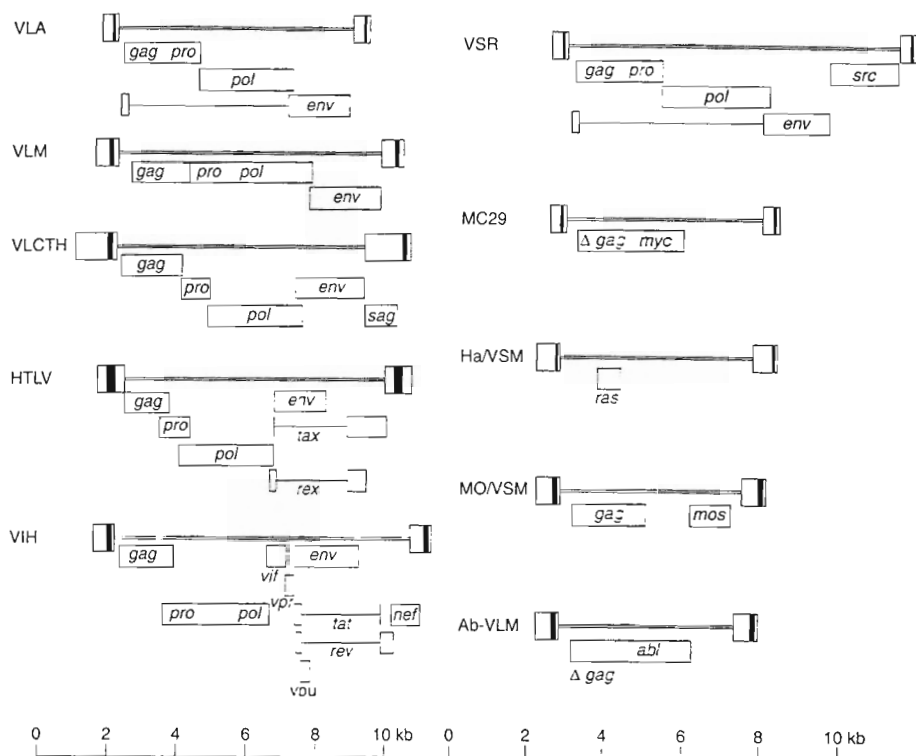


Figura 43-2. Organización genética de algunos retrovirus más representativos. **A:** virus no defectuosos, competentes para su replicación. Ejemplos de retrovirus con genomas simples y complejos. El rectángulo abierto muestra el marco de lectura abierto para el gen indicado. Si el rectángulo tiene disposición vertical en la impresión, sus marcos de lectura son diferentes. Las líneas horizontales que conectan dos rectángulos indican que este segmento sufrió empalme. **Genomas simples:** VLA, virus de la leucocitosis aviaria (*Alfarretrovirus*); VLM, virus de la leucemia de murinos (*Gammaarretrovirus*); VTMR, virus de tumor mamario en ratones (*Betarretrovirus*). **Genomas complejos:** VLCTH, virus de células T limfotrófica, humanas (*Deltarretrovirus*); VIH, virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (*Lentivirus*). **B:** virus portadores de oncogenes. Se muestran varios ejemplos, donde el oncogén aparece sombreado; todos son defectuosos excepto VRS. VRS, virus del sarcoma de Rous (oncogén *src*) (*Alfarretrovirus*); MC29, virus de la mielocitomatosis aviaria (oncogén *myc*) (*Gammaarretrovirus*); Ha-VSM, virus del sarcoma murino de Harvey (oncogén *ras*); Mo-VSM, virus del sarcoma murino de Moloney (oncogén *mos*) (*Gammaarretrovirus*); Ab-VLM, virus de la leucemia de murinos de Abelson (oncogén *abl*) (*Gammaarretrovirus*). En la parte inferior de cada panel se indica la escala del tamaño del genoma. (Modificado, con autorización, de Vogt VM: *Retroviral virions and genomes*. In: *Retroviruses*. Coffin JM, Hughes SH, Varmus HE [editors]. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997.)

precisa del provirus después de su integración se logra a través de secuencias específicas en el extremo de ambas repeticiones terminales largas.

Los genomas virales progenitores pueden después transcribirse a partir del DNA proviral a RNA viral. La secuencia U3 de la repetición terminal larga contiene tanto a un promotor como a un facilitador. Este último puede contribuir a conferir especificidad tisular durante la expresión viral. El DNA proviral es transcrito por una enzima huésped, RNA polimerasa II. Las transcripciones de longitud completa (encapsuladas o coronadas, poliadeniladas) pue-

den servir como RNA genómico para la encapsidación de los viriones progenitores. Algunas transcripciones se empaquetan, y los mRNA subgenómicos se traducen con el fin de producir proteínas precursoras virales, que después sufren modificación y lisis para así originar a los productos proteínicos finales.

Si el virus contiene un gen transformador, el oncogén no desempeñará ninguna función en la replicación; esto muestra gran contraste con los virus tumorales con DNA, donde los genes transformadores también son esenciales para la replicación viral.

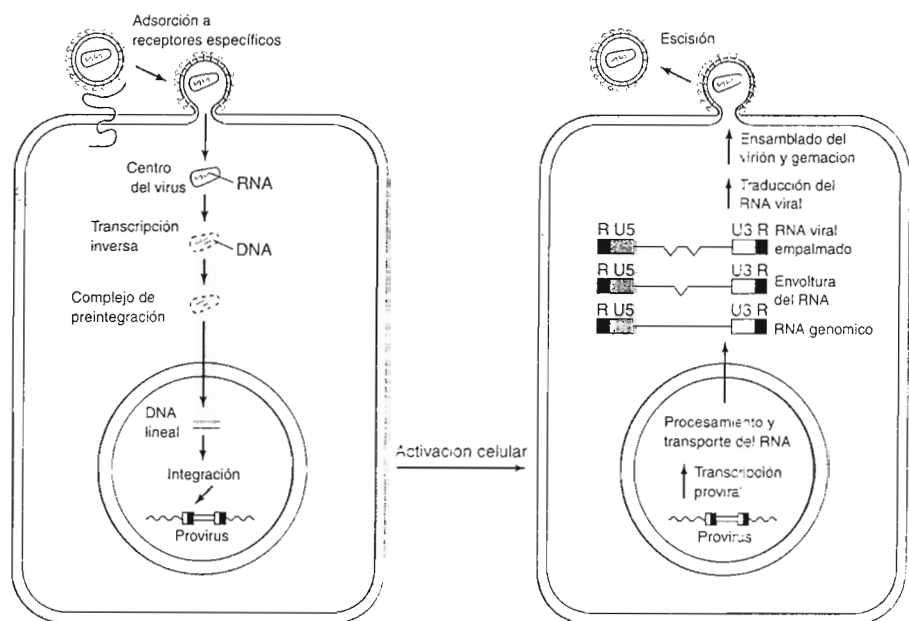


Figura 43-3. Panorama general del ciclo de replicación de los retrovirus. La partícula viral (virus) se adhiere a un receptor de la superficie celular, liberando el centro del virión hacia el interior de la célula. La enzima viral transcriptasa reversa produce una copia de DNA a partir del genoma de RNA aún asociado a la partícula subviral. El DNA se integra en un sitio al azar al DNA de la célula huésped, formando así un provirus. El provirus integrado sirve como moderador de la síntesis de las transcripciones virales, algunas de las cuales serán los genomas de RNA y otras serán moléculas de mRNA. Las proteínas virales se sintetizan, las proteínas y los genomas de RNA se unen, y las partículas brotan de la célula. Las proteínas de la cápside se procesan proteolíticamente por medio de la proteasa viral y así generan viriones infecciosos. El ejemplo corresponde a una partícula de VIH; típicamente, la activación celular precede a la expresión del RNA viral. Este paso no es necesario para todos los retrovirus. (Reproducido con autorización de O'Brien WA, Pomerantz RJ: HIV infection and associated diseases. In: *Viral Pathogenesis*. Nathanson N et al. [editores]. Lippincott-Raven, 1997.)

Las partículas virales maduran y abandonan las células huésped infectadas desde las membranas citoplásmicas mediante gemación; posteriormente, la proteasa viral corta las proteínas Gag y Pol de la poliproteína precursora, gene-

rándose un virión infectante preparado para la transcripción reversa cuando la siguiente célula es infectada.

Un rasgo sobresaliente de los retrovirus es que no son citolíticos; es decir, no matan las células donde se replican

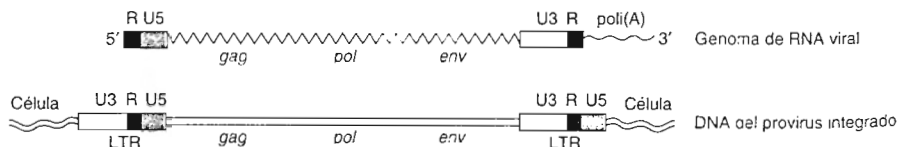


Figura 43-4. Comparación de la estructura del genoma de RNA y del provirus de DNA integrado de los retrovirus. Una partícula viral contiene dos copias idénticas del genoma de RNA de cadena única. La terminal 5' sufre encapsulación (o coronación) y la terminal 3' poliadenilación. Una secuencia corta (R) se repite en ambos extremos; las secuencias únicas se localizan cerca de las terminales 5' (U5) y 3' (U3). U3 contiene secuencias promotoras y facilitadoras. El provirus de DNA integrado es flanqueado a ambos extremos por la estructura de la repetición terminal larga, (RTL) generada durante la síntesis de la copia de DNA mediante la transcripción reversa. Cada repetición terminal larga contiene secuencias U3, R y U5. Las repeticiones terminales largas y las regiones codificadoras del genoma del retrovirus no se dibujaron a escala.

Las ex...
cos (ca...
celular...
maner...
nica po...

Retro

Varios...
pero se...
grupo...
existid...
años. S...
de linfo...
cell leu...
rativo c...
tica tro...
humano...
do de n...
VLCTH...
mologi...
cruzada...
Lo...
afinidad...
a nivel...
las secu...
en la re...
de las se...
células...
relacion...
estrateg

Figura...
los And...
Mueller...
man DD...

Las excepciones son los lentivirus, que pueden ser citolíticos (capítulo 44). El provirus permanece integrado al DNA celular durante todo el ciclo vital de la célula. No existe una manera conocida para curar una célula de una infección crónica por un retrovirus.

Retrovirus humanos

Varios retrovirus son endémicos en poblaciones humanas, pero sólo algunos se relacionan con tumores humanos. El grupo linfotrópico T humano (VLCTH) de retrovirus ha existido probablemente en los humanos durante miles de años. Se ha establecido que VLCTH-1 es el agente causal de linfoma de células T del adulto (ATL, del inglés *adult T cell leukemia-lymphoma*), así como un trastorno degenerativo del sistema nervioso denominado paraparesia espástica tropical. No transporta un oncogén. Se aisló un virus humano relacionado, VLCTH-2, pero no ha sido relacionado de manera concluyente con una enfermedad específica. VLCTH-1 y VLCTH-2 comparten cerca de 65% de la homología de secuencia y muestran reactividad serológica cruzada importante.

Los virus linfotrópicos humanos muestran una gran afinidad por las células T maduras. El VLCTH-1 se expresa a niveles muy bajos en individuos infectados; al parecer, las secuencias virales promotoras-facilitadoras localizadas en la repetición terminal larga podrían ser las responsables de las señales relacionadas con la activación y proliferación de células T. De ser cierto, la replicación de los virus quizá se relaciona con la replicación de las células huésped —una estrategia que garantizaría la propagación eficiente del virus.

Los retrovirus humanos son transreguladores (figura 43-2); portan un gen, *tax*, cuyo producto altera la expresión de otros genes virales. Se piensa que los genes reguladores transactivadores son necesarios para la replicación viral *in vivo* y pueden contribuir a la oncogénesis también mediante la modulación de genes celulares que regulan el crecimiento celular.

Hay varios subtipos genéticos de VLCTH-1, siendo los principales A, B y C (éstos no representan serotipos distintos).

El virus muestra una distribución mundial, observándose brotes de enfermedades relacionadas con él en ciertas zonas geográficas (sur de Japón, Melanesia, el Caribe, sur de EUA y algunas regiones de América del Sur y África) (figura 43-5). Aunque menos de 1% de personas en todo el mundo posee anticuerpos contra VLCTH-1, más de 10% de la población de zonas endémicas sera seropositiva, y en 50% de los familiares de pacientes con leucemia positivos al virus se pueden encontrar anticuerpos anti-VLCTH.

La transmisión de VLCTH-1 parece implicar la participación celular del virus. La transmisión madre a hijo a través de la alimentación al seno materno es muy importante; la eficiencia de la transmisión de una madre infectada a su hijo se estima que es de 15 a 25%. Este tipo de infección del inicio de la vida se relaciona con mayor riesgo de ATL. La transfusión sanguínea también es un medio eficaz de transmisión, como lo es el compartir agujas contaminadas con sangre (usuarios de drogas y las relaciones sexuales).

La seroepidemiología identificó la relación entre la infección por VLCTH-1 y un síndrome llamado mielopatía/paraparesia espástica tropical (HAM/TSP). La característica clínica principal es el desarrollo de una debilidad

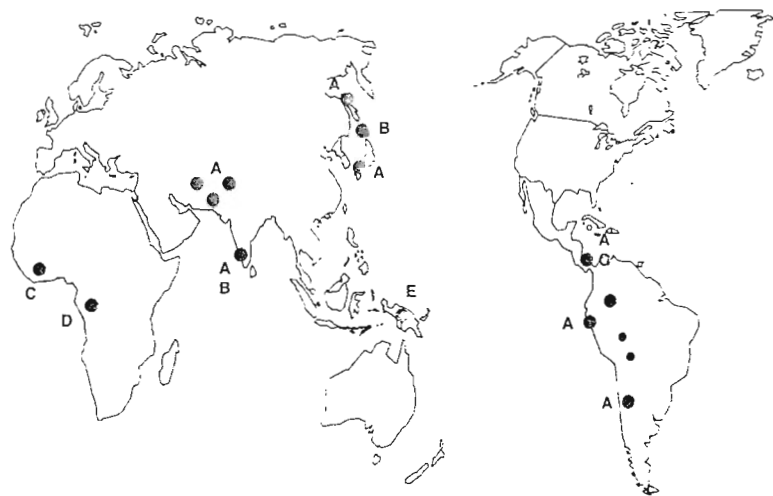


Figura 43-5. Los subtipos de VLCTH-1 están distribuidos geográficamente en focos endémicos. A, Japón, India, el Caribe y los Andes; B, Japón e India; C, África occidental y el Caribe; D, África Central; E, Papua Nueva Guinea. (Cortesía de N. Mueller; reproducida de Blattner WA: Human lymphotropic viruses: VLCTH-1 y VLCTH-2. In: *Clinical Virology*, 2nd ed. Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG [editors]. ASM Press, 2001.)

progresiva de piernas y del hemicuerpo inferior; las facultades mentales del paciente permanecen intactas. HAM/TSP se describe como un trastorno de la misma magnitud e importancia en los trópicos, que la esclerosis múltiple en países occidentales.

Se ha establecido como causa de SIDA a un grupo de retrovirus humanos; véase el capítulo 44. Los virus son citotóxicos y no transformantes y se clasifican como lentivirus. Sin embargo, los pacientes con SIDA tienen mayor riesgo de varios tipos de cáncer como resultado de la supresión inmune relacionada con la infección por virus de la inmunodeficiencia humana. Estos cánceres incluyen linfomas y cáncer cervicouterino.

Los virus espumosos del simio del género *Spumavirus* tienen una prevalencia alta en primates cautivos no humanos. Los humanos que por su actividad están expuestos a los primates se pueden infectar con virus espumosos, pero estas infecciones aún no han producido muertes.

ONCOGENES CELULARES

"Oncogén" es el término general otorgado a genes que causan cáncer. Versiones normales de estos genes transformadores se encuentran presentes en las células normales, por lo que se les designó como proto-oncogenes.

El descubrimiento de oncogenes celulares surgió a partir de algunos estudios con retrovirus inductores de transformación aguda. Se observó que las células normales contenían copias altamente relacionadas, pero no idénticas, de varios genes transformadores propios de retrovirus; las secuencias celulares se capturaron e incorporaron a los genomas de los retrovirus. La transferencia de los genes celulares fue posiblemente un accidente, puesto que la presencia de las secuencias celulares no ofrece beneficio alguno a los virus. Se conocen muchos otros oncogenes celulares que no se han segregado dentro de vectores retrovirales, pero sí se han detectado mediante el empleo de métodos moleculares.

Los oncogenes celulares son, en parte, responsables de la base molecular del cáncer humano; representan componentes individuales de complicadas vías causantes de la regulación de la proliferación, división y diferenciación celulares. La expresión incorrecta de cualquier componente puede interrumpir tal regulación, dando como resultado un crecimiento descontrolado de las células (cáncer). Existen ejemplos de proteínas cinasas específicas de tirosina (p.ej., *src*), factores del crecimiento (*sis* es similar al factor de crecimiento derivado de plaquetas de los humanos, un potente mitógeno para las células originadas del tejido conjuntivo), receptores del factor de crecimiento mutados (*erb-B* es un receptor truncado del factor de crecimiento epidérmico), proteínas de unión a GTP (*Ha-ras*) y factores de transcripción nuclear (*myc*, *jun*).

Los mecanismos moleculares responsables de activar un proto-oncogén benigno y convertirlo a un gen canceroso son variables, pero todos implican daño genético. El gen se puede sobreexpresar, por lo que esta "sobredosis" del producto del oncogén sobreexpresado ejercerá efectos importantes en los cambios de crecimiento celular. Estos mecanismos pueden resultar en una actividad constitutiva (pérdida de la regulación normal), de manera que el gen se

exprese en un momento incorrecto durante el ciclo celular o en tipos inapropiados de tejido. Las mutaciones pueden alterar la interacción cuidadosamente regulada de una proteína de un proto-oncogén con otras proteínas o ácidos nucleicos. La inserción de un promotor retroviral adyacente a un oncogén celular puede tener como consecuencia la expresión facilitada de ese gen (a esto se le conoce como "oncogénesis por inserción del promotor"). La expresión de un gen celular también puede incrementarse a través de la acción de secuencias vecinas o cercanas de un "facilitador" viral.

GENES SUPRESORES TUMORALES

Una segunda clase de genes oncogénicos humanos participa en el desarrollo de los tumores: se trata de reguladores negativos del crecimiento celular, los genes supresores de tumores. Estos genes se identificaron debido a que forman complejos con las oncoproteínas de ciertos virus tumorales con DNA. Es necesaria la inactivación o pérdida funcional de ambos alelos de un gen de esta clase para que se lleve a cabo la formación del tumor, a diferencia de la activación, que se presenta con los oncogenes celulares. El prototipo de esta clase de genes inhibidores es el gen del retinoblastoma (*Rb*). La proteína *Rb* inhibe la entrada de las células a la fase S mediante su unión a factores de transcripción clave que regulan la expresión de los genes de la fase S. La función de la proteína *Rb* normal se regula a través de fosforilación. La pérdida de la función del gen *Rb* se relaciona con el desarrollo de retinoblastoma —un tumor ocular muy raro que se presenta en los niños— y otros tumores humanos.

Otro gen supresor tumoral muy importante es el gen *p53*; éste también bloquea la evolución del ciclo celular. La proteína *p53* actúa como un factor de transcripción y regula la síntesis de una proteína que inhibe la función de ciertas cinasas del ciclo celular; también origina que las células con daño en su DNA sufran apoptosis. El gen *p53* presenta mutaciones en más de la mitad de todos los cánceres humanos.

VIRUS TUMORALES CON DNA

Existen diferencias fundamentales entre los oncogenes de virus tumorales con DNA y con RNA. Los genes transformadores portados por virus tumorales con DNA codifican funciones necesarias para la replicación viral y no cuentan con homólogos normales en las células huésped. Por el contrario, los retrovirus portan oncogenes celulares transducidos que no participan en la replicación viral, o bien, actúan a través de mecanismos indirectos. Las proteínas transformadoras de virus con DNA forman complejos con las proteínas de las células normales y alteran su función. Para comprender el mecanismo de acción de las proteínas transformadoras de virus DNA es importante identificar los blancos celulares con los que interactúan. Ejemplos de tales interacciones se muestran en el cuadro 43-4.

Cuadro 43-4. Ejemplos de oncoproteínas de virus con DNA y su interacción con proteínas celulares¹

Virus	Oncoproteínas virales	Blanco celular
Poliomavirus SV40	Antígeno T mayor	p53, pRb
	Antígeno t menor	PP2A
Papilomavirus humanos	E6	p53, DLG, MAGI-1, MUPP1
	E7	pRb
Papilomavirus bovinos	E5	Receptor PDGFβ
Adenovirus	E1A	pRb
	E1B-55K	p53
Adenovirus 9	E4ORF1	DLG, MAGI-1, MUPP1
Herpesvirus, virus Epstein-Barr	LMP1	TRAFs

¹Abreviaturas utilizadas: p53, producto del gen p53; pRb, producto el gen de retinoblastoma; PP2A, proteína fosfatasa 2A; PDGF, factor de crecimiento derivado de plaquetas; TRAF, factor relacionado con el receptor del factor de necrosis tumoral. DLG, MAGI-1 y MUPP1 son miembros de una familia de proteínas celulares que contienen dominios PDZ.

POLIOMAVIRUS

En el cuadro 43-5 se listan las propiedades más importantes de los poliomavirus.

Clasificación

La familia Polyomaviridae es un género anterior de la familia Papovaviridae (que ya no existe). Estos son virus pequeños (diámetro de 45 nm) que contienen un genoma circular de DNA de doble cadena (PM 3×10^5 ; 5 kbp) localizado dentro de una cápside sin cubierta que muestra una simetría icosaédrica (figura 43-6). Las histonas celulares se utilizan para condensar el DNA viral dentro de las partículas virales.

El SV40 de monos y humanos, el virus BK y el virus JC de humanos, y los poliomavirus de ratones son virus tumorales simples que contienen DNA que posee una cantidad limitada de información genética (6 o 7 genes).

Replicación de poliomavirus

El genoma de los poliomavirus posee una región "temprana" y una "tardía" (figura 43-7). La región temprana se expresa muy pronto después de la infección de las células; contiene genes que codifican proteínas tempranas, por ejemplo el antígeno grande tumoral de SV40 (T), el cual es necesario para la replicación del DNA viral en células permisivas; y el antígeno tumoral menor (t). El genoma de los poliomavirus codifica tres proteínas tempranas (antíge-

Cuadro 43-5. Propiedades importantes de los poliomavirus¹

Virión: icosaédrico, 45 nm de diámetro
Composición: DNA (10%), proteínas (90%)
Genoma: DNA de doble cadena, circular, 3 millones de PM, 5 kbp
Proteínas: tres proteínas estructurales; las histonas celulares condensan el DNA en el virión
Cubierta: ninguna
Replicación: núcleo
Características sobresalientes:
Estimulan la síntesis del DNA celular
Los oncoproteínas virales interactúan con proteínas supresoras de tumores celulares
Virus tumorales de modelos importantes
Pueden causar enfermedad neurológica y renal en humanos
Podrían causar cáncer en los humanos

¹ Antes se clasificaban en la familia Papovaviridae.

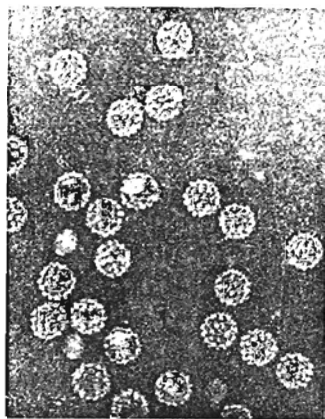


Figura 43-6. Polioma virus SV40. Preparación purificada teñida negativamente con fosfotungstato (150 000x). (Cortesía de S. McGregor y H. Mayor).

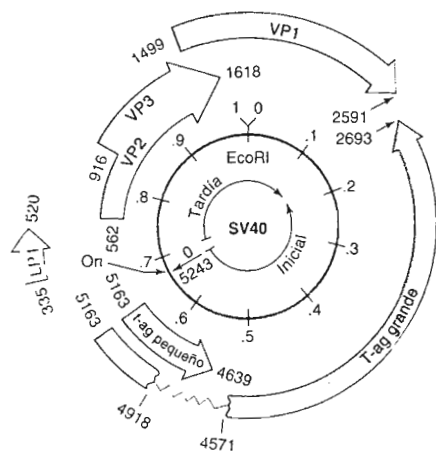


Figura 43-7. Mapa genético del poliovirus SV40. El círculo grueso representa el genoma de DNA circular de SV40. El sitio único EcoRI se muestra en la unidad del mapa 0/1. Los números de los nucleótidos comienzan y terminan en el origen (Ori) de la replicación del DNA viral (0/5243). El cuerpo de las flechas indica los marcos de lectura abiertos que codifican las proteínas virales. Las puntas de las flechas señalan la dirección de la transcripción; el comienzo y el fin de cada marco de lectura abierto se indica mediante los números de nucleótidos. Las figuras sombreadas indican marcos de lectura diferentes utilizados para polipéptidos virales distintos. Nótese que el antígeno T grande (T-ag) se codifica en dos segmentos no contiguos en el genoma. El genoma se divide en las regiones "temprana" y "tardía", expresadas antes y después del inicio de la replicación del DNA viral, respectivamente. Únicamente la región temprana se expresa en las células transformadas. (Reproducido con autorización de Butel JS, Jarvis DL: Biochim Biophys Acta 1986;865:171.)

nos T menor, medio y grande). Uno o dos de los antígenos T son los únicos productos génicos virales requeridos para la transformación de las células. Por lo común, las proteínas transformadoras se deben sintetizar de manera continua para conservar el estado de transformación de las células. La región tardía está constituida por genes que codifican la síntesis de la proteína de cubierta; no se expresan en las células transformadas.

El antígeno T SV40 interactúa con los productos de genes supresores tumorales de las células huésped, los miembros de la familia *p53* y *pRb* (cuadro 43-4). Las interacciones del antígeno T con las proteínas celulares son importantes durante el ciclo de replicación viral. La formación de complejos inactiva funcionalmente las propiedades inhibitorias del crecimiento de *pRb* y *p53*, permitiéndoles a las células ingresar a la fase S, de manera que el DNA viral se pueda replicar. De igual manera, la inactivación funcional de las proteínas celulares por medio de su unión con el antígeno T es un fenómeno esencial para el proceso de transformación mediado por el virus. Dado que la proteína *p53*

percibe el daño del DNA y bloquea la continuación del ciclo celular o inicia la apoptosis, la abolición de su función conduciría a la acumulación de células expresoras de antígeno T con mutaciones genómicas que pudieran promover el crecimiento tumorigénico.

Patogenia y patología

SV40 se replica en células de monos y humanos; es altamente tumorigénico en hámsters inoculados experimentalmente y en ratones transgénicos, y es capaz de transformar muchos tipos de células en cultivo. La inducción del tumor en el huésped natural—mono *rhesus*—pocas veces se observa.

En épocas pasadas, SV40 contaminó muchas de las primeras vacunas de poliovirus vivos y muertos que se habían criado en células de mono, cuya infección por SV40 se desconocía. Millones de personas en todo el mundo recibieron estas vacunas contaminadas entre 1955 y 1963. En la actualidad el SV40 se detecta en humanos, incluso en individuos que son demasiado jóvenes para haber sido expuestos a vacunación, pero se desconoce la frecuencia de infecciones por SV40 en humanos. El DNA de SV40 se ha detectado en tipos seleccionados de tumores humanos, entre otros, tumores del cerebro, mesoteliomas, tumores óseos y linfonos. Se encuentra en investigación la función que desempeña el SV40 en la formación de tumores humanos.

Los poliovirus humanos (BK y JC) se aislaron de pacientes inmunodeficientes. El virus BK causa cistitis, nefropatía y disfunción grave del trasplante renal. Se cree que es la causa de la nefropatía relacionada con el poliovirus en receptores de trasplante renal, que produce insuficiencia del injerto hasta en 50% de los pacientes infectados. El virus JC es la causa de la leucoencefalopatía multifocal progresiva, una enfermedad cerebral fatal que se presenta en personas con inmunodeficiencia. Los dos virus son distintos antígenicamente, pero ambos inducen un antígeno T que se relaciona con el antígeno T de SV40. Los virus BK y JC muestran una distribución mundial en las poblaciones humanas; esto se evidencia mediante la presencia de anticuerpos específicos en 70 a 80% del suero de adultos. La infección generalmente se presenta durante la infancia temprana; ambos virus pueden persistir en los riñones de individuos sanos después de la infección primaria y se pueden reactivar cuando la respuesta inmune del huésped se altera; por ejemplo, antes y después de un trasplante renal o durante el embarazo. Estos virus humanos pueden transformar células de roedores e inducir tumores en hámsters recién nacidos. Los virus JC han sido relacionados con tumores cerebrales en humanos.

PAPILOMAVIRUS

Las propiedades importantes de los papilomavirus se enumeran en el cuadro 43-6.

Clasificación

La familia Papillomaviridae es un género antiguo de la familia Papovaviridae. Los papilomavirus son un poco más grandes en diámetro (55 nm) que los poliovirus (45 nm).

Virio
Com
Gen
8
Prot
ce
Cub
Rep
Car
Es
Va
Ca
La
s
Clas

y pos
organ
pleja
y de l
te un
que la
puer
los ai
rios m
50%
100 t

Rep

Los p
viral

Func

Figur
circu
seque
funci
extrap
más c
genet

Cuadro 43-6. Propiedades importantes de los papilomavirus ¹

Virión: icosaédrico, 55 nm de diámetro
Composición: DNA (10%), proteína (90%)
Genoma: DNA de doble cadena, circular, PM 5 000 000 8 kbp
Proteínas: dos proteínas estructurales, los histones celulares condensan DNA en el virión
Cubierta: ninguna
Replicación: núcleo
Características sobresalientes:
Estimula la síntesis de DNA celular
Variedad restringida de huéspedes y tropismo tisular
Causa importante de cáncer humano, en particular cáncer cervicouterino
Las oncoproteínas virales interactúan con las proteínas supresoras de tumores celulares

¹ Clasificados antes en la familia Papovaviridae.

y poseen un genoma más grande (8 kbp *versus* 5 kbp). La organización del genoma de los papilomavirus es más compleja (figura 43-8). Las propiedades de los papilomavirus y de los poliomavirus se comparan en el cuadro 43-7. Existe una gran diversidad entre los papilomavirus. Debido a que las pruebas de neutralización no se pueden llevar a cabo, puesto que no existe un ensayo de infecciosidad *in vitro*, los aislados de papilomavirus se clasifican utilizando criterios moleculares. Los "tipos" de virus comparten menos de 50% de homología de su DNA; se han identificado más de 100 tipos distintos de papilomavirus humano (VPH).

Replicación de papilomavirus

Los papilomavirus muestran gran tropismo por las células epiteliales de piel y membranas mucosas. El ácido nucleico viral se puede localizar en células progenitoras basales, pero

la expresión génica tardía (proteínas de la cápside) se restringe a la capa más superficial de queratinocitos diferenciados (figura 43-9). Las etapas del ciclo de replicación viral dependen de factores específicos que se presentan en estados diferenciados secuenciales de las células epiteliales. Esta fuerte dependencia de la replicación viral del estado diferenciado de la célula huésped es responsable de la dificultad para la propagación de los papilomavirus *in vitro*.

Patogenia y patología

Los papilomavirus producen varias clases diferentes de verrugas en humanos, incluyendo verrugas cutáneas, verrugas plantares, verrugas planas, condilomas genitales y papilomas laríngeos (cuadro 43-8). Los tipos múltiples de aislados de papilomavirus humanos se relacionan predominantemente con ciertas lesiones clínicas, aunque los patrones de distribución no son absolutos. Son muy comunes las lesiones genitales transmitidas sexualmente y relacionadas con VPH; el cáncer cervicouterino es el segundo tipo de cáncer más frecuente en las mujeres en todo el mundo (alrededor de 500 000 casos nuevos cada año) y es la causa principal de muerte por cáncer en países en vías de desarrollo.

Los VPH se reconocen como la causa de cánceres anógenitales, incluyendo el cáncer cervicouterino. Los papilomavirus ilustran el concepto de que las cepas virales naturales pueden diferir en cuanto a potencial oncogénico. Los tipos identificados con más frecuencia son VPH-16 y VPH-18, aunque algunos cánceres contienen DNA de los tipos VPH-31 o tipo VPH-45. Las células HeLa —una línea de células de cultivos tisulares ampliamente utilizada, obtenida hace muchos años de un carcinoma cervicouterino— contienen DNA de VPH-18. Los cánceres orofaríngeos también se relacionan con infecciones por VPH, específicamente el tipo 16.

Con base en la frecuencia de aparición relativa de DNA viral en ciertos cánceres, los tipos VPH-16 y 18 se consideran los de más alto riesgo para cáncer; otros tipos de alto

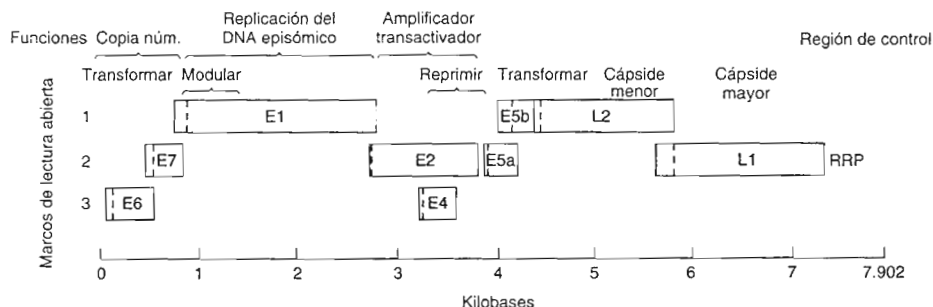


Figura 43-8. Mapa del genoma del papilomavirus humano (VPH-6, 7 902 pares de bases). El genoma del papilomavirus es circular, aunque aquí se muestra lineal en la región reguladora positiva (RRP). Ésta contiene el origen de la replicación y las secuencias promotoras y facilitadoras. Se muestran los marcos de lectura abierta tempranos (E1-E7) y tardíos (L1, L2) y sus funciones. Todos los marcos de lectura abierta se encuentran en la misma cadena del DNA viral. Las funciones biológicas se extrapolan de estudios realizados con papilomavirus bovinos. La organización del genoma del papilomavirus es mucho más compleja que la de SV40 (comparar con la figura 43-7). (Reproducido con autorización de Broker TR: Structure and genetic expression of papillomaviruses. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987;14:329.)

Cuadro 43-7. Comparación de las propiedades de poliomavirus y papilomavirus

Característica	Poliomavirus	Papilomavirus
Virión		
Estructura de la cápside	Icosaédrica, sin cubierta	Icosaédrica, sin cubierta
Tamaño (diámetro)	45 nm	55 nm
Genoma		
Tipo, estructura del ácido nucleico	DNA circular de doble cadena	DNA circular de doble cadena
Tamaño: número de pares de bases	5×10^3	8×10^3
Información de codificación	En ambas cadenas	En una cadena
Potencial oncogénico	No común	Sí
Tumores en huéspedes naturales		
Resultado de la infección natural	Por lo general no evidente	Tumor benigno (verruca)
Tejido blanco	Órganos internos	Epitelio superficial
Transformación de células <i>in vitro</i>	Sí	Infrecuente
Genoma en las células transformadas	Por lo general integrado	Episómica en verrugas; integrado en carcinomas
Miembros individuales		
Virus infeccioso para humanos	Virus BK y JC; SV40	Papilomavirus humanos, más de 100 tipos
Enfermedad humana más significativa	Leucoencefalopatía multifocal progresiva; nefropatía en receptores de transplantes	Verrugas cutáneas, verrugas genitales, papilomas laringeos, carcinoma cervical
Aislados animales más importantes	Virus polioma (ratón), SV40 (mono)	Papilomavirus aislados de vacas y conejos

¹ Antes ambos grupo se clasificaban en la familia Papovaviridae.

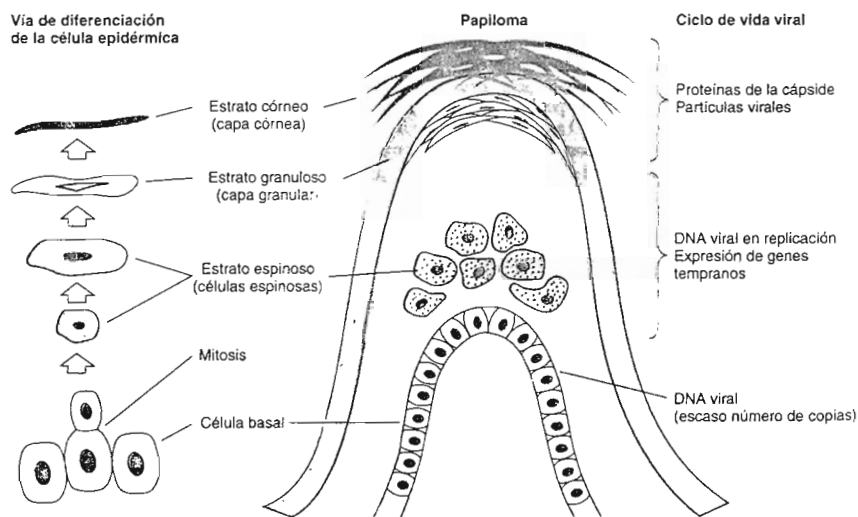


Figura 43-9. Representación esquemática de una verruga cutánea (papiloma). El ciclo vital del papilomavirus depende directamente de la diferenciación de la célula epitelial. La vía de diferenciación terminal de las células epidérmicas aparece a la izquierda. A la derecha se muestran los eventos del ciclo de vida del virus. Los eventos tardíos de la replicación viral (síntesis de proteínas de la cápside y morfogénesis de los viriones) tienen lugar únicamente en células que sufren diferenciación terminal. (Reproducido con autorización de Bute JS: Papovaviruses. In: *Medical Microbiology*, 2nd ed. Albrecht T, Baron S [editors]. Churchill Livingstone, 1990.)

Cuadro 43-8. Relación de los papilomavirus humanos con lesiones clínicas

Tipo de papilomavirus humano	Lesión clínica	Potencial oncogénico sospechado
1, 4	Verrugas plantares	Benignas
2, 4, 26, 27, 29	Verrugas comunes	Benignas
3, 10, 28, 41	Verrugas planas	Muy pocas veces malignas
5, 8	Epidermodisplasia verruciforme en pacientes con deficiencia de la inmunidad celular	30% progresa a malignidad
6, 11	Condilomas anogenitales; papilomas laríngeos; displasias y neoplasias intraepiteliales	Bajo
7	Verrugas en manos de manipuladores de carne y animales	Benignas
9, 12, 14, 15, 17, 19-25, 36, 46, 47	Epidermodisplasia verruciforme	Algunas progresan a carcinomas (p. ej., VPH-17, VPH-20)
13, 32	Hiperplasia epitelial focal oral	Posible progresión a carcinoma
16, 18, 30, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56	Displasias de alto grado y carcinomas de la mucosa genital; carcinomas laríngeos y esofágicos	Alta correlación con carcinomas genitales y orales, especialmente cáncer cervical
34, 40, 42-44, 53-55, 58, 59, 61, 62, 64, 66-69	Neoplasias intraepitelial (genital, otros sitios con mucosa)	Algunas progresan a carcinomas
75, 77	Verrugas comunes en pacientes sometidos a trasplante de órganos	
37	Queratoacantoma	Benigno

riesgo menos comunes son 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52 y 56. Los tipos 6 y 11 se clasifican de bajo riesgo. Muchos tipos de VPH se consideran benignos.

Los papilomas laríngeos en niños son causados por VPH-6 y VPH-11, los mismos virus que causan condilomas genitales benignos. La infección se adquiere durante el paso por el canal del parto de una madre con verrugas genitales. Aun cuando los papilomas laríngeos son infrecuentes, su crecimiento puede llegar a obstruir la laringe, por lo que se deben extirpar quirúrgicamente de manera repetida.

Copias integradas del DNA viral se encuentran presentes en las células cancerosas, aunque el DNA de VPH generalmente no se integra (episómico) en células no cancerosas o lesiones premalignas. Las proteínas virales tempranas E6 y E7 se sintetizan en tejido canceroso: éstas son proteínas transformadoras capaces de formar complejos con proteínas Rb y p53 y otras de la célula huésped (cuadro 43-4).

Hay una prevalencia alta de DNA de VPH en la piel normal de adultos sanos. Al parecer estas infecciones asintomáticas por VPH se adquieren muy al principio de la infancia. En la piel normal se detecta una gran multiplicidad de tipos de VPH.

El comportamiento de las lesiones causadas por VPH se encuentra bajo la influencia de factores inmunológicos: la inmunidad mediada por células es un aspecto relevante. Las verrugas tienden a desaparecer espontáneamente con el paso del tiempo, en tanto que los pacientes inmunosuprimidos experimentan una incidencia mayor de verrugas y cáncer de cervicouterino. Los cánceres relacionados con VPH se presentan con más frecuencia en personas con VIH o SIDA.

Debido a la participación tan importante de los VPH en el cáncer humano, ya se encuentran en desarrollo vacunas contra estos agentes.

ADENOVIRUS

Los adenovirus (capítulo 32) comprenden un grupo extenso de agentes de amplia distribución en la naturaleza. Son de tamaño mediano, sin cubierta y contienen un genoma lineal de DNA de cadena doble (36 a 38 kbp). La replicación es específica de cada especie y tiene lugar en las células de los huéspedes naturales. Los adenovirus comúnmente infectan humanos, causando enfermedades agudas leves, en particular del tracto respiratorio y gastrointestinal.

Los adenovirus pueden transformar células de roedores e inducir la síntesis de antígenos tempranos virus-específicos que se localizan tanto en el núcleo como en el citoplasma de las células transformadas. Las proteínas tempranas E1A forman complejos con la proteína celular Rp, así como con muchas otras proteínas de la célula huésped. Otras proteínas tempranas, E1B y E4ORF1, se unen a p53 y otras proteínas de señalización celular (cuadro 43-4). Los adenovirus son modelos importantes para el estudio de los mecanismos moleculares mediante los cuales los virus tumorales con DNA usurpan los procesos de control del crecimiento celular. Los serotipos diferentes de adenovirus manifiestan grados variables de oncogenicidad en hámsters recién nacidos. No se ha encontrado alguna relación entre adenovirus y neoplasias humanas.

HERPESVIRUS

Estos virus tan grandes (diámetro 100 a 200 nm) contienen un genoma lineal de DNA de cadena doble (124 a 235 kbp)

y poseen una cápside con simetría icosaédrica rodeada por una cubierta lipídica externa. Los herpesvirus (capítulo 33) típicamente causan infecciones agudas seguidas por periodos de latencia y recurrencia eventual en cada huésped, incluyendo humanos.

En humanos, los herpesvirus se relacionan con varios tipos específicos de tumores. El herpesvirus Epstein-Barr (EB) causa mononucleosis infecciosa aguda cuando infecta a linfocitos B de humanos susceptibles. Los linfocitos humanos normales poseen un espectro de vida limitado *in vitro*, pero los virus EB pueden inmortalizar tales linfocitos convirtiéndolos a líneas celulares linfoblásticas que crecen indefinidamente en cultivo.

El virus EB se relaciona etiológicamente con el linfoma de Burkitt, un tumor frecuente en niños de África Central: con el carcinoma nasofaríngeo (CNF), más común en chinos cantoneses y esquimales de Alaska que en otras poblaciones; con linfomas postrasplante; y con la enfermedad de Hodgkin. Estos tumores generalmente contienen DNA viral de EB (tanto en la forma integrada como episómica) y antígenos virales.

El virus EB codifica una proteína oncogénica viral (LMP1) que simula un receptor del factor de crecimiento activado. LMP1 es capaz de transformar fibroblastos de roedores y es un elemento esencial para la transformación de linfocitos B (cuadro 43-4). Varios antígenos nucleares codificados por el virus EB (ANEB) son necesarios para la immortalización de las células B; ANEB1 es la única proteína viral expresada siempre en las células de linfoma de Burkitt. El virus EB es sumamente exitoso para evitar su eliminación inmune; esto se puede deber, en parte, a la función de ANEB1 en la inhibición del procesamiento de antígenos, permitiendo así el escape de las células infectadas de la destrucción por parte de los linfocitos T citotóxicos.

El paludismo puede ser un cofactor para el linfoma de Burkitt africano. La mayoría de estos tumores también presentan translocaciones cromosómicas características entre el gen *c-myc* y los *loci* de inmunoglobulinas, lo cual lleva a la activación constitutiva de la expresión de *myc*. El consumo de pescado salado o seco puede ser un factor dietético para el desarrollo de CNF relacionado con virus EB.

El herpesvirus relacionado con sarcoma de Kaposi, también conocido como herpesvirus 8 humano (VHSK/VHHS), no resulta tan omnipresente como la mayoría de los otros herpesvirus humanos. Se sospecha que este virus es la causa del sarcoma de Kaposi, del linfoma de derrame primario y de un trastorno linfoproliferativo particular. VHSK posee un gran número de genes que estimulan la proliferación celular y modifican los mecanismos de defensa del huésped.

Algunos herpesvirus se relacionan con tumores generados en animales inferiores: la enfermedad de Marek es una enfermedad linfoproliferativa muy contagiosa de los pollos y que se puede prevenir mediante la vacunación con una cepa atenuada del virus causal de esta enfermedad. La prevención del cáncer por medio de vacunación, en este caso, establece que este virus es el agente etiológico de la enfermedad y sugiere la posibilidad de llevar a cabo un abordaje similar para la prevención de tumores humanos con un virus considerado el agente causal. Otros ejemplos de tumores inducidos por herpesvirus en animales son los lin-

mas de ciertos tipos de monos y los adenocarcinomas de ranas. Los virus simianos causan infecciones inadvertidas en sus huéspedes naturales, pero inducen linfomas malignos de células T cuando se transmiten a otras especies de monos.

POXVIRUS

Los poxvirus (capítulo 34) son virus grandes con forma de ladrillo y un genoma lineal de DNA de doble cadena (130 a 375 kbp). El virus Yabapox produce tumores benignos (histiocitomas) en su huésped natural, el mono. El virus del fibroma Shope produce fibromas en algunos ratones y tiene la capacidad para alterar las células en cultivo. El virus del molusco contagioso produce pequeños crecimientos celulares benignos en humanos. Muy poco se conoce acerca de estas enfermedades proliferativas, aunque al parecer hay participación del factor de crecimiento codificado por poxvirus que se relaciona con el factor de crecimiento epidérmico y con el factor transformador del crecimiento.

VIRUS DE LA HEPATITIS B Y VIRUS DE LA HEPATITIS C

El virus de la hepatitis B (capítulo 35), un miembro de la familia Hepadnaviridae, se caracteriza por la generación de viriones esféricos de 42 nm con un genoma circular de DNA de doble cadena (3.2 kb). Cadena sencilla de DNA se encuentra incompleta y muestra una longitud variable. Los estudios del virus han fracasado, puesto que este microorganismo no crece en cultivos celulares.

Además de causar hepatitis, el virus de la hepatitis B es un factor de riesgo para el desarrollo de cáncer hepático en humanos. Estudios epidemiológicos y de laboratorio han demostrado que la infección persistente por el virus de la hepatitis B es una causa importante de enfermedad hepática crónica y de carcinoma hepatocelular. Las infecciones causadas por el virus de la hepatitis B que se presentan en adultos generalmente se remiten, pero las infecciones primarias de neonatos y niños pequeños tienden a la cronicidad hasta en 90% de los casos. Son precisamente estas infecciones persistentes por el virus de la hepatitis B, establecidas en etapas tempranas de la vida, las que implican un riesgo mucho mayor para desarrollar carcinoma hepatocelular en etapas posteriores. Aún permanece sin determinarse el mecanismo de la oncogénesis. La infección viral persistente lleva a necrosis, inflamación y regeneración hepática que con el paso del tiempo culmina en cirrosis. El carcinoma hepatocelular por lo general se origina independientemente de estos antecedentes. La proteína transactivadora del virus de la hepatitis B, la proteína X, es una oncoproteína viral en potencia. Un carcinógeno dietético, aflatoxina, puede ser un cofactor para el carcinoma hepatocelular, especialmente en África y China.

La llegada de una vacuna efectiva contra la hepatitis B como medida de prevención de la infección primaria hace surgir la posibilidad de prevenir la aparición del carcinoma

hepatocelular, particularmente en regiones del mundo donde la infección por el virus de la hepatitis B es hiperendémica (p. ej., África, China, sureste de Asia); sin embargo, debido al periodo de latencia tan prolongado entre la infección y el desarrollo de cáncer, los efectos de la vacuna no serán evidentes hasta al menos dentro de 20 años.

Las marmotas son un modelo excelente de infecciones causadas por el virus de la hepatitis B en humanos. Un virus similar, el virus de la hepatitis de la marmota, produce infecciones crónicas en marmotas recién nacidas y adultas, muchas de las cuales evolucionan a carcinoma hepatocelular en un periodo de tres años.

El virus de la hepatitis C (capítulo 35), miembro de la familia *Flaviviridae*, posee un genoma de RNA de cadena única de 9.4 kb. Al parecer, la mayoría de las infecciones se hacen persistentes, en adultos inclusive. La infección crónica por el virus de la hepatitis C también se considera un factor causal de carcinoma hepatocelular. Probablemente, la mayor parte de los virus de la hepatitis C actúan de manera indirecta en el desarrollo del carcinoma hepatocelular.

En la actualidad existen 250 millones de personas en todo el mundo con infección persistente del virus de la hepatitis B, y más de 170 millones de portadores crónicos del virus de la hepatitis C, lo cual representa un reservorio muy grande de individuos con riesgo de presentar cáncer hepático.

CÓMO PROBAR QUE UN VIRUS CAUSA CÁNCER EN HUMANOS

Queda claro que los virus están involucrados en la génesis de varios tipos de tumores humanos; demostrar la relación causal entre un virus y un tipo determinado de cáncer es, en general, muy difícil.

Si un virus es el agente etiológico de un cáncer específico, la distribución geográfica de la infección viral deberá coincidir con la distribución geográfica del tumor; la presencia de marcadores virales deberá ser más alta en los casos que en los controles; y la infección viral deberá preceder la aparición del tumor. Sólo si la expresión continua de una función viral se requiere para la conservación de la transformación, entonces los genes virales necesariamente persistirán en cada célula tumoral. Si el virus representa uno de los primeros pasos de la carcinogénesis de etapas múltiples, el genoma viral se puede perder conforme el tumor progresa a estadios más alterados. Por el contrario, un virus se puede observar relacionado frecuentemente con un tumor, pero sólo como un simple pasajero, debido a que comparte afinidad por el mismo tipo celular.

Los virus tumorales por lo general no se replican en las células transformadas, por lo que es necesaria la búsqueda de los ácidos nucleicos o proteínas del virus sospechado en las células para detectar su presencia. Las proteínas estructurales virales suelen no expresarse en las células tumorales, pero las proteínas no estructurales codificadas por el virus pueden expresarse como marcadores de la presencia del virus.

La inducción de tumores en animales de laboratorio y la transformación de células humanas en cultivo representan una buena línea de evidencia circunstancial de que un virus es tumorigénico: estos sistemas de investigación pueden generar modelos para el análisis molecular del proceso de transformación. No obstante, estos métodos no son pruebas contundentes de que el virus causa un cáncer humano en particular.

La prueba más definitiva de una relación causal es la disminución de la incidencia de un tumor mediante la prevención de la infección viral estudiada. Los métodos de intervención deben mostrar eficacia para reducir la presencia del cáncer, incluso si el virus es sólo uno de múltiples cofactores.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Los virus causan cáncer en animales y humanos. Un principio de carcinogénesis viral es que:
 - Los retrovirus causan más tipos de cáncer humano
 - No todas las infecciones con un virus cancerígeno humano originan formación de tumores
 - Transcurren periodos latentes cortos entre el tiempo de la infección por virus y la aparición del tumor
 - Con los modelos animales pocas veces se predicen los mecanismos en el cáncer humano
 - Los factores del huésped son insignificantes para afectar el desarrollo del cáncer humano inducido por virus
- Los oncogenes celulares representan genes activados que intervienen en el cáncer. Una segunda clase de genes del cáncer está involucrada en el desarrollo de la enfermedad sólo cuando se inactivan ambos alelos del gen. La segunda clase de genes se llama:
 - Proto-oncogenes
 - Genes de antígeno T
 - Genes supresores tumorales
 - Genes transducidos
 - Genes silenciosos
- A una mujer de 38 años de edad con muchas parejas sexuales durante su vida se le diagnostica cáncer cervicouterino. Este cáncer es común a nivel mundial y tiene una etiología viral transmitida por vía sexual. El agente causante del cáncer cervicouterino humano es:
 - Virus de la hepatitis C
 - Virus de la hepatitis B
 - Papilomavirus humanos, tipos de alto riesgo
 - Poliomavirus
 - Herpesvirus
- Los retrovirus codifican una enzima llamada transcriptasa reversa. La función de esta enzima es:
 - Actividad de DNasa
 - Actividad de polimerasa de DNA dependiente de RNA
 - Actividad de polimerasa de RNA dependiente de DNA
 - Actividad de polimerasa de RNA dependiente de RNA
 - Actividad de topoisomerasa
- Dos meses después de un trasplante de riñón, un hombre de 47 años de edad resultó con nefropatía. De 1 a 5% de los receptores de aloinjerto renal desarrollan nefropatía. Una causa viral de algunos de los casos de nefropatía se han identificado como:

- A. Poliomavirus BK
- B. Papilomavirus humano, todos los tipos
- C. Papilomavirus humano, tipos de bajo riesgo
- D. Virus de hepatitis C
- E. Citomegalovirus humano
6. Los papilomavirus humanos causan cáncer en humanos y por lo común se los relaciona más con:
 - A. Pólipos rectales
 - B. Cáncer de mama
 - C. Cáncer de próstata
 - D. Cánceres anogenitales
 - E. Mesoteliomas
7. Un virus que causa cáncer humano también se relaciona con un trastorno del sistema nervioso denominado paraparesia espástica tropical. Ese virus es:
 - A. Poliomavirus JC
 - B. Poliomavirus SV40
 - C. Virus de herpes simple
 - D. Virus linfotrópico T humano
 - E. Virus de la inmunodeficiencia humana
8. Los poliomavirus codifican oncoproteínas llamadas antígenos T. Estos productos génicos virales:
 - A. Son innecesarios para la replicación del virus
 - B. Interactúan con las proteínas supresoras de tumores celulares
 - C. Funcionan para integrar el provirus viral en el cromosoma celular
 - D. Mutan con rapidez para permitir que el virus escape a la eliminación inmune del huésped
 - E. No pueden transformar células de cultivo
9. Los virus del cáncer se clasifican en varias familias de virus. La siguiente familia de virus contiene un virus de cáncer humano con un genoma de RNA:
 - A. Adenoviridae
 - B. Herpesviridae
 - C. Hepadnaviridae
 - D. Papilomaviridae
 - E. Flaviviridae
10. Los papilomas laríngeos en niños en general son causados por los mismos virus que causan condilomas genitales benignos. Estos virus son:
 - A. Papilomavirus, tipos 6 y 11
 - B. Poliomavirus JC
 - C. Virus Epstein-Barr
 - D. Virus de molusco contagioso
 - E. Papilomavirus, tipos 16 y 18

Respuestas: 1 = B; 2 = C; 3 = C; 4 = B; 5 = A; 6 = D; 7 = D; 8 = B; 9 = E; 10 = A

REFERENCIAS

- Bosch FX *et al.*: The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002;55:244.
- Butel JS: Viral carcinogenesis: revelation of molecular mechanisms and etiology of human disease. *Carcinogenesis* 2000;21:405.
- Coffin JM, Hughes SH, Varmus HE (editors): *Retroviruses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997.
- Cole CN: Polyomavirinae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Williams & Wilkins, 2001.
- Galloway DA: Papillomavirus vaccines in clinical trials. *Lancet Infect Dis* 2003;3:469.
- Golff SP: Retroviridae: The viruses and their replication. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Khalili K, Raab-Traub N (editors): *Cancer viruses*. *Oncogene Rev* 2003;22 (No. 21. [Entire issue.]
- Khalili K, Stoner GL (editors): *Human Polyomaviruses: Molecular and Clinical Perspectives*. Wiley-Liss, 2001.
- Lowy DR, Howley PM: Papillomaviruses. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editor). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Newton R, Beral V, Weiss RA (editors): *Infections and Human Cancer*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999.
- Parsonnet J (editor): *Microbes and Malignancy: Infection as a Cause of Human Cancers*. Oxford Univ Press, 1999.

SIDA y lentivirus

Los tipos de virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), derivados de los lentivirus primates, son el agente etiológico del SIDA. La enfermedad fue descrita por primera vez en 1981 y el VIH-1 se aisló a finales de 1983. Desde entonces el SIDA se ha convertido en una epidemia mundial, la cual se extiende en alcance y magnitud a medida que la infección por VIH afecta a diferentes poblaciones y regiones geográficas. En la actualidad se han infectado millones de personas en todo el mundo; una vez infectados, los individuos permanecen así durante toda la vida. Sin tratamiento, antes de un decenio la gran mayoría de las personas infectadas con VIH desarrollan infecciones oportunistas mortales como consecuencia de las deficiencias inducidas por este virus en el sistema inmunitario. El SIDA es uno de los problemas más importantes de salud pública en todo el mundo en el comienzo del siglo XXI.

PROPIEDADES DE LOS LENTIVIRUS

Las propiedades importantes de los lentivirus, miembros de un género de la familia *Retroviridae*, se resumen en el cuadro 44-1.

Estructura y composición

Sólo cuatro años después de identificado por primera vez un síndrome patológico desconocido (SIDA) en 1981, se aisló e identificó al agente causal y el genoma de algunos de los virus aislados fue secuenciado; esto es un avance a la virología molecular moderna.

El VIH es un retrovirus, un miembro del género *Lentivirus*, y muestra muchas de las características físico-químicas típicas de dicha familia (véase capítulo 43). El rasgo morfológico peculiar del VIH es un nucleoide cilíndrico en el virión maduro (figura 44-1). El nucleoide en forma de barra es diagnóstico y se observa en micrografías electrónicas de partículas extracelulares seccionadas en el ángulo apropiado.

El genoma de RNA de los lentivirus es más complejo que el de los retrovirus transformantes (figura 44-2). El virus contiene los tres genes requeridos para un retrovirus replicante: *gag*, *pol* y *env* (véase capítulo 43). Hasta seis genes adicionales regulan la expresión del virus y son importantes

Cuadro 44-1. Propiedades importantes de los lentivirus (retrovirus no oncogénos)

- Virión:** esférico, 80 a 100 nm de diámetro, centro cilíndrico
- Genoma:** RNA de cadena sencilla, lineal, de sentido positivo, 9 a 10 kb, diploide; genoma más complejo que el de los retrovirus oncogénos, contiene hasta seis genes adicionales de replicación
- Proteínas:** la glucoproteína de la cubierta sufre variación antigénica; los viriones contienen la enzima transcriptasa inversa; se requiere una proteasa para la producción de virus infectante
- Cubierta:** presente
- Replicación:** la transcriptasa inversa elabora copias del DNA del RNA genómico; el provirus de DNA es la plantilla para el RNA viral. Es común la variabilidad genética
- Maduración:** las partículas geman a través de la membrana plasmática
- Características notables:**
- Los miembros no son oncogénos y pueden ser citocidas
 - Infectan las células del sistema inmunitario
 - Los provirus permanecen interrelacionados de manera permanente con las células
 - Tienen expresión viral *in vivo* restringida en algunas células
 - Causan enfermedad crónica lentamente progresiva
 - La replicación es muy específica de especie
 - El grupo incluye el agente causal del SIDA

en la patogenia de la enfermedad *in vivo*. Aunque estos genes auxiliares muestran secuencias con poca homología entre los lentivirus, sus funciones se conservan. (Los virus de felinos y de ungulados sólo poseen tres genes accesorios.) Una proteína replicativa de fase temprana, la proteína *tat*, funciona en la "transactivación" que involucra a un producto génico viral en la activación transcripcional de otros genes virales. La transactivación en el VIH es muy eficiente y puede explicar, en parte, la naturaleza virulenta de las infecciones por dicho virus. La proteína *rev* es necesaria para la expresión de las proteínas estructurales virales. La *rev* facilita la exportación del núcleo de transcritos virales no empalmados: las proteínas estructurales son traducidas a partir del mRNA no empalmado durante la fase tardía de la replicación viral. La proteína *nef* induce la producción de quimiocina, facilita la activación de células T en reposo

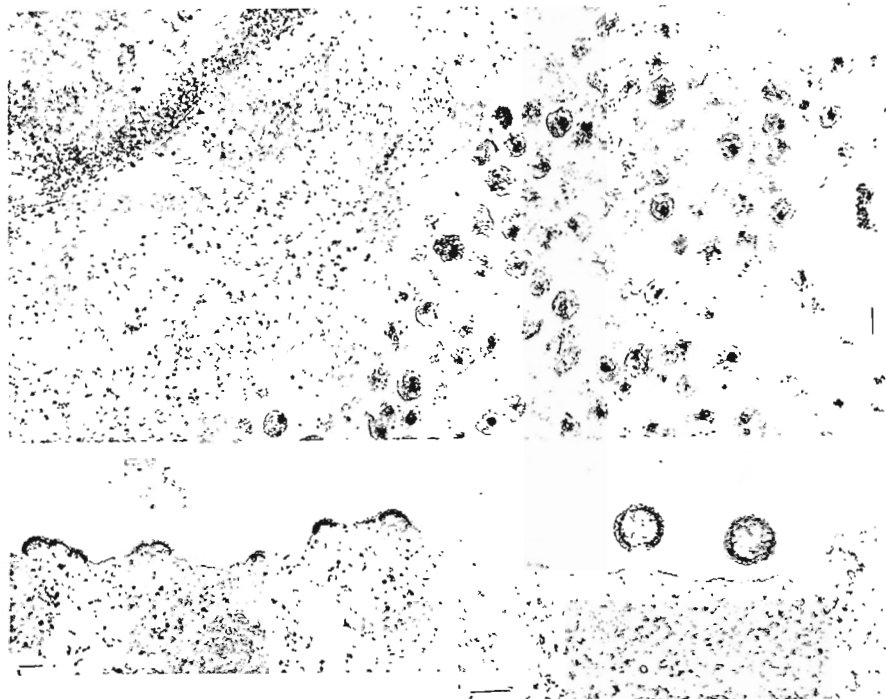


Figura 44-1. Micrografías electrónicas de linfocitos infectados por VIH, que muestran gran acumulación de virus recién producidos en la superficie de la célula (arriba, 46 450 x, barra = 100 nm); virus recién formados gemando en la membrana citoplásmica (abajo izquierda, 49 000 x, barra = 100 nm); dos viriones a punto de desprenderse de la superficie de la célula (abajo derecha, 75 140 x, barra = 100 nm)

y desregula la expresión de la subpoblación de linfocitos T cooperadores (CD4) y del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) clase I. El gen *nef* es necesario para el virus de la inmunodeficiencia en simios (VIS) para realmente ser patógeno en monos.

La proteína *vpr* incrementa el transporte del complejo de preintegración viral hacia el núcleo y también detiene las células en la fase G2 del ciclo de la célula. La proteína *vif* promueve la infectividad del virión, al parecer suprimiendo los efectos de una proteína celular inhibidora presente en algunas células humanas.

Los diferentes VIH aislados no son idénticos, pero al parecer contienen una variedad de virus interrelacionados (véase clasificación). Las poblaciones heterogéneas de genomas virales se encuentran en un individuo infectado. Esta heterogeneidad refleja altas tasas de replicación viral y la alta tasa de errores de la transcriptasa inversa viral. Las regiones de mayor divergencia entre los diferentes aislados se localizan en el gen *env*, el cual codifica las proteínas de la cubierta viral (figura 44-3). El producto SU (gp120) del gen *env* contiene dominios de unión para adherir el virus a la molécula CD4 y a los receptores coexistentes, determina el

tropismo por los linfocitos y los macrófagos, y contiene los determinantes antígenos principales que inducen los anticuerpos neutralizantes. La glucoproteína del VIH tiene cinco regiones variables (V) diferentes entre los virus aislados, y la región V3 es la más importante en la neutralización. El producto TM (gp41) *env* contiene un dominio transmembranal que une a la glucoproteína en la cubierta viral y un dominio de fusión que facilita la penetración del virus en las células. Las divergencias en la cubierta del VIH complican los esfuerzos para desarrollar una vacuna eficaz contra el SIDA.

Los lentivirus son virus completamente exógenos; al contrario de los retrovirus transformantes, el genoma lentiviral no contiene gen celular alguno conservado (véase capítulo 43). Las personas se infectan por la introducción del virus desde fuentes externas.

Clasificación

Los lentivirus se han aislado de muchas especies (cuadro 44-2), incluyendo al menos 26 especies diferentes de primates no humano de africanos. Existen dos tipos distintos

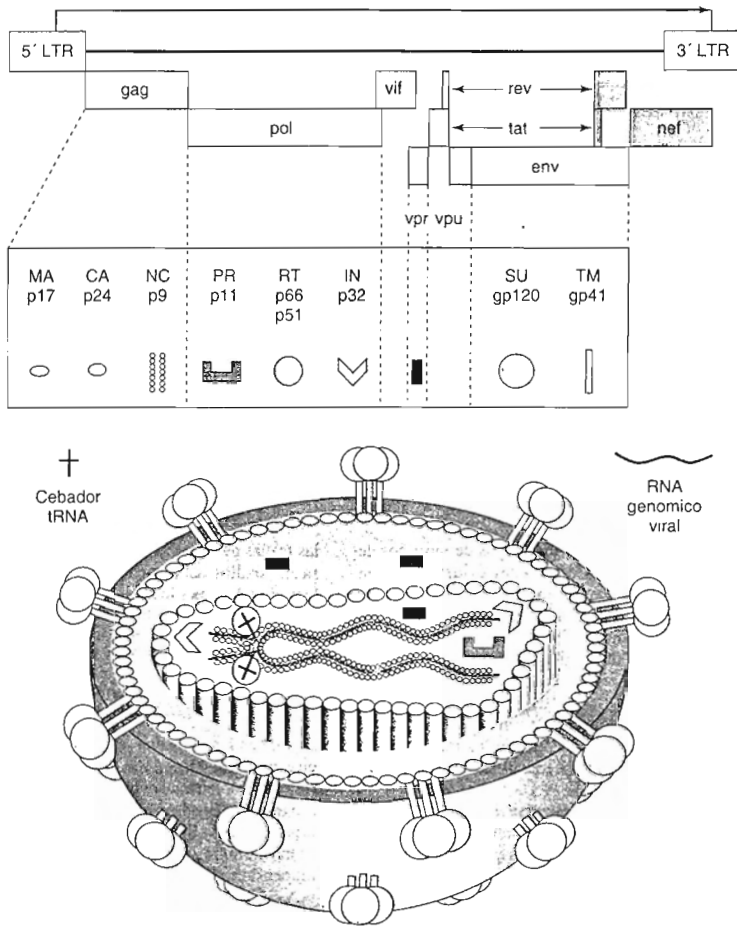


Figura 44-2. Genoma del VIH y estructura del virión. Arriba se muestra el genoma del VIH-1. Las proteínas virales se sintetizan como poliproteínas precursoras (*gag-Pol* [Pr160], *Gag* [Pr55] y *env* [gp160]) enzimáticamente procesadas para producir proteínas maduras de virión. *gag-Pol* y *Gag* son escindidas por la proteasa viral PR para producir las proteínas más pequeñas indicadas. *Env* se escinde mediante una PR celular y produce SU gp120 y TM gp41. La colocación de las proteínas del virión en la partícula viral se indica con símbolos (figura de abajo). Se desconoce la posición exacta de las proteínas PR, RT e IN en el centro viral. El VIH-2 y el VIS carecen del gen *vpu* pero contienen el gen *vpx* (Reproducido de Peterlin BM: Molecular biology of HIV. In: *The Viruses*. Vol 4: *The Retroviridae*. Levy JA [editor]. Plenum, 1995. Modificado de Luciw PA, Shacklett BL in: *HIV: Molecular Organization, Pathogenicity and Treatment*. Morrow WJW, Haigwood NL [editors]. Elsevier, 1993.)

de virus humanos que causan SIDA, VIH-1 y VIH-2. Los dos tipos se distinguen entre sí por la organización de su genoma y de sus relaciones filogenéticas (evolutivas) con otros lentivirus primates.

Con base en las secuencias del gen *env*, VIH-1 comprende tres grupos distintos de virus (M, N y O); el grupo

M predominante contiene 11 subtipos o "clades" (A-K, excluyendo E e I). Las formas recombinantes del virus también se encuentran en circulación en los humanos de diferentes regiones geográficas. De manera similar, se han identificado seis subtipos de VIH-2 (A-F). Dentro de cada subtipo existe una gran variabilidad. Al parecer los grupos

Cuadro 44-2. Miembros representativos de la subfamilia lentivirus

Origen de los aislados	Virus	Enfermedades
Humanos	VIH-1 (VIS _{ozz}) ¹ VIH-2 (VIS _{pm}) ¹	SIDA
Primates no homínidos ² Chimpancé Mangabey moteado Macacos ³ Mono verde africano Mono de Sykes Mandril Mono l'Hoest	VIS _{ozz} VIS _{pm} VIS _{mac} VIS _{gm} VIS _{yk} VIS _{md} VIS _{hoest}	SIDA simiano
No primates ⁴ Gato Vaca Oveja Caballo Cabra	Virus de la inmunodeficiencia felina Virus de la inmunodeficiencia bovina Visna, maedi Anemia infecciosa equina Artritis caprina, encefalitis	SIDA felino Pulmón, enfermedad del SNC Anemia Artritis, encefalitis

¹Los orígenes del VIH-1 y VIH-2 fueron transmisiones cruzadas entre diversas especies de los virus VIS_{ozz} y VIS_{pm}, respectivamente.

²Enfermedad no causada en el huésped original por VIS, pero requiere transmisión a una especie diferente de mono (*rhesus* es más susceptible a la enfermedad). Los macacos asiáticos (*rhesus*) no muestran evidencia de la infección por VIS en su ambiente natural; el VIS mangabey tal vez se introdujo accidentalmente a macacos en cautiverio.

³La sangría indica que el virus pertenece al mismo linaje filogenético que el virus mencionado arriba.

⁴Lentivirus no primates causan enfermedad en las especies de origen.

genéticos no corresponden con los grupos de serotipos de neutralización, y en la actualidad no hay evidencia de que los subtipos difieran en cuanto a la biología o patogénesis.

Numerosos aislados de lentivirus se han obtenido de especies primates no humanos. Los lentivirus primates caen en cinco líneas filogenéticas principales (cuadro 44-2). El VIS derivado del mangabey moteado (un tipo de mono que habita en África occidental) y el VIH-2 se consideran variantes del mismo virus, así como sucede con los aislados de VIS de chimpancés y el VIH-1. Los VIS de los monos verdes africanos, los monos Sykes y los mandriles son grupos adicionales separados.

La organización de los genomas de los lentivirus de primate (humano y simiano) es muy similar. Una diferencia es que el VIH-1 y el virus del chimpancé contienen un gen *vpu*, en tanto que el VIH-2 y la mayor parte de los VIS poseen un gen *vpx*; las secuencias de los genes *gag* y *pol* están muy conservadas. Existe una diferencia significativa entre la cubierta de los genes de la glucoproteína; las secuencias de la porción de transmembrana de la proteína están más conservadas que las secuencias de la glucoproteína externa (componente proteínico expuesto con el exterior de la partícula viral).

El VIS al parecer no es patógeno en sus especies huéspedes de origen (mono verde africano, mangabey moteado), se sabe que estas especies están infectadas en sus hábitat naturales; por el contrario, los monos *rhesus* no están infectados naturalmente en su estado salvaje en Asia, pero son susceptibles de inducirles SIDA simiano con diferentes virus SIDA aislados. El primer virus que se recuperó de monos *rhesus* cautivos (VIS_{mac}) fue la cepa mangabey moteado/VIH-2.

Los lentivirus que no son de primates establecen infección persistente en varias especies animales. Estos virus causan enfermedad crónica debilitante y a veces inmunodeficiencia. El agente prototipo, el virus visna (también denominado virus maedi), causa síntomas neurológicos o neumonía en

las ovejas de Islandia. Otros virus causan anemia infecciosa en caballos, así como artritis y encefalitis en cabras. Los lentivirus felinos y bovinos pueden causar inmunodeficiencia. No se sabe si los lentivirus que no son de primates infectan algún primate, incluso humanos.

Origen del SIDA

El VIH en los humanos se originó de infecciones cruzadas en especies diversas a través de virus de simios en el África rural, probablemente debido al contacto humano directo con sangre infectada de primates. La evidencia actual señala que las contrapartes virales primates de los virus VIH-1 y VIH-2 se transmitieron a humanos en múltiples (al menos en siete) ocasiones diferentes. El análisis de la evolución de las secuencias sitúa cerca de 1930 a la introducción del VIS_{pm} en humanos como el origen del grupo M del VIH-1. Presuntamente, tales transmisiones se suscitaron repetidamente con el paso del tiempo y de generación a generación, aunque las modificaciones en particular sociales, económicas y conductuales que tuvieron lugar a principios y mediados del siglo XX condicionaron circunstancias que permitieron la expansión de estas infecciones virales hasta establecerse perfectamente en el organismo humano, alcanzando proporciones epidémicas.

Desinfección e inactivación

El VIH se inactiva por completo ($\geq 10^5$ unidades de infectividad) mediante tratamiento durante 10 min a temperatura ambiente con cualquiera de los siguientes: blanqueador casero al 10%, etanol al 50%, isopropanol al 35%, Nonidet P40 al 1%, Lysol al 0.5%, paraformaldehído al 0.5%, o peróxido de hidrógeno al 0.3%. El virus también se inactiva por pH extre-

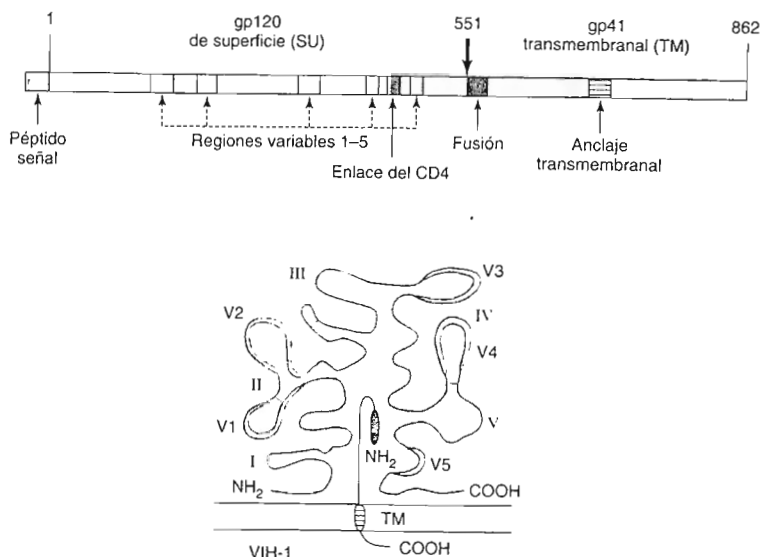


Figura 44-3. Proteínas de la cubierta del VIH-1. Arriba se muestra el polipéptido precursor gp160. La subunidad gp120 se encuentra sobre el exterior de la célula, y gp41 es una proteína transmembranal. Los dominios hipervariables en gp120 se designan V1 hasta V5; las posiciones de los puentes disulfuro se muestran como líneas conectoras. Las regiones importantes en la subunidad gp41 son el dominio de fusión en la terminal amino y el dominio transmembrana TM. Las terminales amino (NH₂) y carboxilo (COOH) están marcadas en ambas subunidades. (Reproducido de Peterlin BM: Molecular biology of HIV. In: *The Viruses*. Vol 4: *The Retroviridae*. Levy JA [editor]. Plenum, 1995. Modificado de Myers G et al.: *Human Retroviruses and AIDS 1993: A Compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences*. Theoretical Biology and Biophysics Group T-10, Los Alamos National Library, Los Alamos, New Mexico.)

mos (pH 1.0 y 13.0). Sin embargo, cuando el VIH está presente en sangre coagulada o no coagulada en una aguja o jeringa, es necesario exponerlo al blanqueador no diluido cuando menos durante 30 seg para inactivarlo.

El virus no se inactiva con Tween-20 al 2.5%. Aunque el paraformaldehído inactiva el virus libre en solución, no se sabe si penetra a los tejidos lo bastante para inactivar todos los virus que pudieran estar presentes en células cultivadas o muestras de tejido.

El VIH se inactiva con rapidez en líquidos o en suero al 10% mediante calentamiento a 56 °C durante 10 min, pero el material proteináceo seco le confiere una protección notable. Los productos de sangre liofilizada deben ser tratados con temperatura a 68 °C durante 72 h para garantizar la inactivación del virus contaminante.

Sistemas de los lentivirus animales

El conocimiento de las características biológicas de la infección por lentivirus se obtuvo a partir de infecciones experimentales, en particular en ovejas con virus visna (cuadro 44-2). Los patrones de la enfermedad natural varían entre las especies, pero se reconocen ciertas características comunes:

- 1) Los virus se transmiten por intercambio de líquidos corporales.
- 2) Los virus persisten de manera indefinida en el huésped infectado, aunque se encuentren en concentraciones muy escasas.
- 3) Los virus presentan elevadas tasas de mutación, y diferentes mutantes serán seleccionados en diferentes condiciones (factores del huésped, respuestas inmunitarias, tipos de tejidos). El huésped infectado contiene "pozas" de genomas virales muy interrelacionados, conocidos como cuasiespecies.
- 4) La infección por el virus progresa lentamente a través de etapas específicas. Las células en los macrófagos desempeñan una función central en la infección. Los lentivirus difieren de otros retrovirus en que pueden infectar las células completamente diferenciadas que no se encuentran en estado de división. Sin embargo, estas células deben ser activadas antes de que tenga lugar la replicación viral y se produzca la progenie del virus. El virus se relaciona con células como monocitos y macrófagos, pero aproximadamente sólo una célula por millón se infecta. Los monocitos llevan el virus a todo el cuerpo de modo que el sistema inmunitario no puede reconocerlo, y así se siembra en otros tejidos. Las cepas linfocí-

trotópicas del virus tienden a causar infecciones muy productivas, en tanto que la replicación del virus macrofagotrópico es restringida.

- 5) Pueden transcurrir varios años antes de que la enfermedad se desarrolle. El huésped infectado generalmente produce anticuerpos que no lo liberan de la infección, de modo que el virus persiste durante toda la vida. En el huésped infectado periódicamente se originan nuevas variantes antigénicas. La mayor parte de las mutaciones se presenta en las glucoproteínas de la cubierta. Se pueden desarrollar síntomas clínicos en cualquier momento desde los tres meses hasta muchos años después de la infección. Las excepciones de un periodo prolongado de incubación para las enfermedades por lentivirus incluyen el SIDA en niños, la anemia infecciosa en caballos y la encefalitis en cabras pequeñas.

Los factores importantes del huésped en la patogenia de la enfermedad incluyen la edad (los jóvenes están en mayor riesgo), el estrés (puede desencadenar la enfermedad), la genética (ciertas cepas de animales son más susceptibles) y la infección concurrente (puede exacerbar la enfermedad o facilitar la transmisión del virus).

La enfermedad en ungulados (caballos, bovinos, ovejas y cabras) no se complica con infecciones secundarias oportunistas. Las moscas hematofagas pueden propagar el virus de la anemia infecciosa equina entre los caballos, este lentivirus es el único conocido que se transmite por un vector insecto.

Los lentivirus simianos comparten características moleculares y biológicas con el VIH y causan una enfermedad parecida al SIDA en monos *rhesus*. El modelo VIS es importante para entender la patogenia de la enfermedad y desarrollar una vacuna y estrategias de tratamiento.

Receptores del virus

Todos los lentivirus de primates utilizan como receptor la molécula CD4 expresada en los macrófagos y los linfocitos

T. Para que el VIH-1 penetre a las células se requiere un segundo receptor además de: CD4, para la fusión del virus con la membrana celular (figura 44-4). El virus se une primero a CD4 y después al segundo receptor. Estas interacciones causan cambios conformacionales en la cubierta viral, al tiempo que activan al péptido de fusión gp41 y desencadenan la fusión con la membrana. Los receptores de quimiocinas sirven como segundos receptores para el VIH-1. (Las quimiocinas son factores solubles con propiedades quimioatrayentes y de citocinas). La molécula CCR5, el receptor de las quimiocinas RANTES, MIP-1a y MIP-1b, es el coreceptor predominante para las cepas de VIH-1 con tropismo hacia los macrófagos; en tanto que CXCR4, el receptor para la quimiocina SDF-1, es el coreceptor para las cepas de VIH-1 con tropismo por linfocitos. Los receptores de quimiocinas utilizados por el virus para entrar a las células se localizan en linfocitos, macrófagos y timocitos, así como en neuronas y células de colon y de cuello uterino. Los individuos que poseen deleciones homocigotas del gen que codifica el promotor CCR5 parecen retardar la evolución de la enfermedad. El requerimiento para un coreceptor para la fusión de VIH con las células proporcionan nuevos objetivos para las estrategias terapéuticas antivirales, con el primer inhibidor de entrada de VIH autorizado en EUA en 2003.

Una lectina específica de células dendríticas, la DC-SIGN, parece unirse al VIH-1, mas no media su entrada a la célula; en cambio, se piensa que podría facilitar el transporte del VIH por medio de células dendríticas a órganos linfoides y así permitir la infección de las células T.

INFECCIÓN POR VIH EN HUMANOS

Patogenia y patogología

A. Aspectos generales del curso de la infección por VIH

El curso típico de la infección por VIH no tratada se prolonga casi un decenio (figura 44-5). Las etapas incluyen infec-

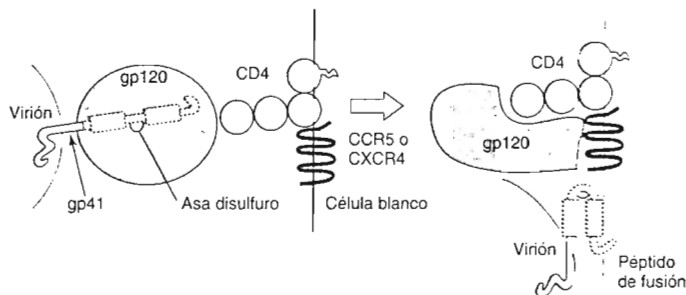


Figura 44-4. Fusión del VIH con la célula blanca. La gp120 se une a la molécula CD4 y luego al coreceptor (CCR5 o CXCR4). Esto produce un cambio conformacional en las proteínas de la cubierta viral que afectan a la gp41; de esta forma el péptido de fusión penetra a la célula y tiene lugar la fusión con la membrana. (Reproducido con autorización de Binley J. Moore JP: The viral mousetrap. Nature 1997;387:346.)

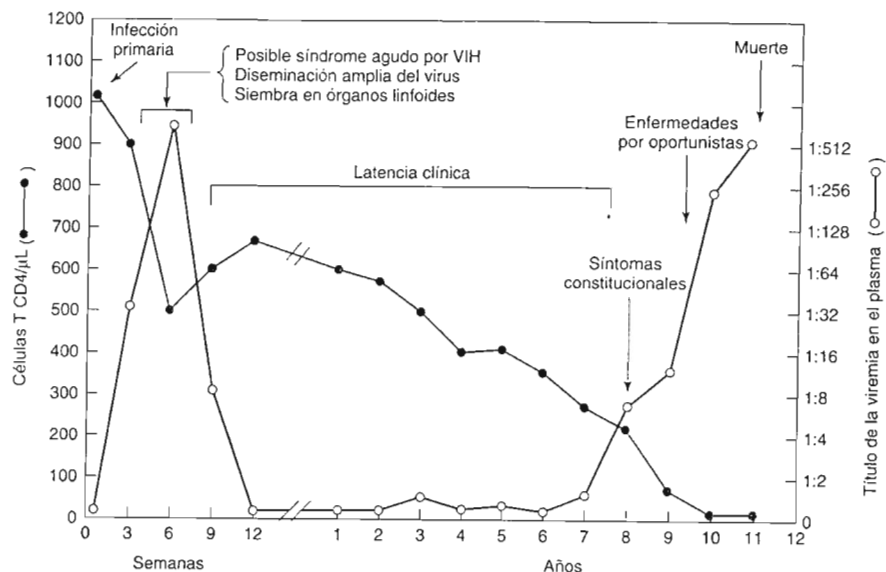


Figura 44-5. Evolución típica de la infección por VIH. Durante el periodo inicial después de la infección primaria hay una amplia diseminación del virus y disminución aguda del número de células T CD4 en la sangre periférica. Sigue una respuesta inmunitaria al VIH con disminución de la viremia detectable seguida por un periodo prolongado de latencia clínica. Las pruebas sensibles para el RNA viral muestran que el virus está presente en plasma en todo momento. La cifra de las células T CD4 continúa en disminución durante los siguientes años, hasta alcanzar un valor crítico por debajo del cual existe un riesgo sustancial de enfermedad por oportunistas. (Reproducido con autorización de Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS: New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1993;328:327.)

infección primaria, diseminación del virus a órganos linfoides, latencia clínica, aumento de la expresión del VIH, enfermedad clínica y muerte. La duración promedio entre la infección primaria y la evolución hasta enfermedad clínica es de casi 10 años. En casos no tratados, la muerte por lo general tiene lugar durante los dos años posteriores al inicio de los síntomas clínicos. Después de la infección primaria, transcurre un periodo de 4 a 11 días entre la infección de la mucosa y la viremia inicial; la viremia es detectable durante casi 8 a 12 semanas. En este periodo el virus se disemina ampliamente a todo el cuerpo y se siembra en los órganos linfoides. En muchos pacientes (50 a 75%) se puede desarrollar un síndrome agudo, parecido a la mononucleosis, de 3 a 6 semanas después de la infección primaria. En este periodo inicial hay una disminución significativa del número de células T CD4 circulantes. Una semana a tres meses después de la infección aparece una respuesta inmunitaria al VIH, la viremia plasmática disminuye y se restablece la concentración de las células CD4. Sin embargo, la respuesta inmunitaria es incapaz de liberar por completo al huésped de la infección y las células infectadas por el VIH persisten en los ganglios linfáticos.

Este periodo de latencia clínica puede durar hasta 10 años. Durante ese tiempo hay replicación viral abundante,

cada día se estima que se producen y destruyen 10 000 millones de partículas de VIH. La vida media del virus en plasma es de casi 6 h, y el ciclo biológico del virus (desde el momento de la infección de una célula hasta la producción de una nueva progenie que infecta las siguientes células) es 2.6 días en promedio. Los linfocitos T CD4 son los principales encargados de la producción del virus y parecen tener una gran tasa similar de recambio. Una vez infectados con infección productiva, la vida media de los linfocitos CD4 es de casi 1.6 días. Debido a esta rápida proliferación del virus, y a la inherente tasa de error de la transcriptasa inversa del VIH se estima que cada nucleótido del genoma del VIH probablemente presenta una mutación diaria.

Con el tiempo, el paciente desarrolla síntomas generales y enfermedad clínica aparente manifestada por infecciones oportunistas o neoplasias. Durante las etapas avanzadas de la infección se detectan con facilidad en el plasma las más grandes concentraciones del virus. El VIH encontrado en pacientes en etapa terminal de la enfermedad comúnmente es mucho más virulento y citopático que las cepas de virus observadas al principio de la infección. Con frecuencia, la evolución a SIDA se acompaña de un cambio de las cepas monocito o macrófagotrópicas (M-trópicas) del VIH-1 hacia las variantes linfocitotrópicas (T-trópicas).

B. Linfocitos T CD4 y células de memoria

La característica fundamental de las infecciones por VIH es la disminución de linfocitos inductores de células T cooperadoras, el resultado de la replicación de VIH en esta población de linfocitos, así como la muerte de células T no infectadas por mecanismos indirectos. Las células T expresan el marcador fenotípico CD4 en su superficie. La molécula CD4 es el principal receptor del VIH; muestra gran afinidad por la cubierta del virus. El coreceptor para el VIH en los linfocitos es el receptor de quimiocina CXCR4.

Al principio de la infección, los aislados del VIH primario son M-trópicos. Sin embargo, todas las cepas del virus infectan a linfocitos primarios T CD4 (pero no a líneas de células T inmortalizadas *in vitro*); conforme la infección avanza, los virus M-trópicos dominantes son sustituidos por virus T-trópicos. La adaptación en el laboratorio de estos aislados primarios en líneas de células T inmortalizadas da como resultado pérdida de la capacidad para infectar monocitos y macrófagos.

Las consecuencias de la disfunción de las células T CD4 causada por la infección por VIH son devastadoras, debido a que el linfocito T CD4 desempeña una función decisiva en la respuesta inmunitaria humana. Éste se encarga, de manera directa o indirecta, de inducir una amplia variedad de funciones en las células linfoides y no linfoides. Estos efectos incluyen la activación de los macrófagos; la inducción de funciones de células T citotóxicas, células asesinas naturales y células B; y la secreción de varios factores solubles que inducen el crecimiento y la diferenciación de las células linfoides y afectan a las células hematopoyéticas.

En algún momento, sólo una pequeña fracción de células T CD4 son infectadas de manera productiva. Muchas células T infectadas son eliminadas, pero sobrevive una fracción y revierte a un estado de memoria en reposo. Hay poca o ninguna expresión génica de virus en las células de memoria, y proporcionan un reservorio latente y estable de largo plazo para el virus. Cuando se exponen a antígeno, las células de memoria se activan y liberan virus infecciosos. El reservorio latente de células de memoria infectadas se deteriora de manera lenta, con una vida media de al menos 43 meses. Es poco probable que una infección por VIH se pueda curar; si hubiera un millón de células de memoria infectadas en el cuerpo, su deterioro tardaría 70 años.

C. Monocitos y macrófagos

Los monocitos y los macrófagos desempeñan una función importante en la diseminación y patogenia de la infección por VIH. Ciertos subconjuntos de monocitos expresan el antígeno de superficie CD4 y, por tanto, se unen a la cubierta del VIH. El coreceptor para el VIH sobre los monocitos-macrófagos es el receptor de quimiocina CCR5. En el cerebro, el principal tipo de células infectadas con el VIH parecen ser los monocitos y los macrófagos, y esto puede tener consecuencias importantes en el desarrollo de las manifestaciones neuropsiquiátricas relacionadas con la infección por VIH. Los macrófagos alveolares pulmonares infectados pueden desempeñar una función en la neumonitis intersticial observada en ciertos pacientes con SIDA.

Después de la infección, las cepas macrofagotrópicas del VIH predominan al principio y causan la infección ini-

cial, aunque la fuente de transmisión contenga tanto virus M-trópicos como T-trópicos.

Se estima que los monocitos y los macrófagos sirven como los reservorios principales para el VIH en el organismo. A diferencia del linfocito T CD4, el monocito es relativamente refractario a los efectos citopáticos del VIH, de modo que el virus no sólo puede sobrevivir en estas células sino también ser transportado a los diferentes órganos del cuerpo (como pulmones y cerebro). Los macrófagos infectados podrían continuar con la producción del virus durante largo tiempo.

D. Órganos linfoides

Los órganos linfoides desempeñan una función central en la infección por VIH. Los linfocitos de la sangre periférica sólo representan alrededor de 2% de la reserva total de linfocitos, los restantes se localizan sobre todo en los órganos linfoides. La red de células dendríticas foliculares en los centros germinales de los ganglios linfáticos atrapan a los antígenos y estimulan una respuesta inmunitaria. Durante el curso de la infección, incluso en la etapa de latencia clínica, el VIH se replica activamente en los tejidos linfoides. El microambiente del ganglio linfático es ideal para el establecimiento y la propagación de la infección por VIH. Se liberan citocinas que activan una gran reserva de células T CD4 muy susceptibles a la infección por VIH. Conforme la enfermedad avanza a sus últimas etapas, la estructura de los ganglios linfáticos se altera.

E. Células nerviosas

Las anomalías neurológicas son comunes en etapas tardías de la infección y son una condición determinante de SIDA. La enfermedad del sistema nervioso central tiene lugar en diversos grados en 40 a 90% de los pacientes. Esto incluye la encefalopatía por VIH, la neuropatía periférica y, más grave aún, el complejo de demencia por SIDA. Mecanismos patogénicos directos e indirectos pueden explicar las manifestaciones neuropsiquiátricas de la infección por VIH. El tipo de célula predominante en el cerebro infectado por VIH son los monocitos y los macrófagos. El virus puede penetrar al cerebro a través de los monocitos infectados y liberar citocinas tóxicas para las neuronas y también factores quimiotácticos que conducen a la infiltración del cerebro con células inflamatorias. El VIH se ha encontrado en neuronas, oligodendrocitos y astrocitos.

F. Coinfecciones virales

Para establecer una infección por VIH productiva se requieren señales de activación. Al parecer, en la persona infectada por el virus una amplia variedad de estímulos antigénicos *in vivo* sirven como activadores celulares. Por ejemplo, la infección activa por *Mycobacterium tuberculosis* aumenta sustancialmente la viremia en el plasma. Otras infecciones virales concomitantes —virus EB, citomegalovirus, virus del herpes simple, o virus de la hepatitis B— inducen la expresión del VIH y pueden servir como cofactores del SIDA. Una coinfección con virus de hepatitis C es una causa principal de morbilidad y mortalidad en personas infectadas con VIH. Hay una gran prevalencia de infección por citomegalovirus en las personas VIH positivas.

Pueden presentarse coinfecciones con dos cepas diferentes de VIH. Hay casos documentados de superinfección

con una segunda cepa en un individuo infectado por VIH, aun en presencia de una respuesta fuerte de células T CD8 para la primera cepa. La superinfección por VIH se considera como un suceso raro.

Datos clínicos

Los síntomas de infección aguda por VIH son inespecíficos e incluyen fatiga, *rash*, cefalea, náuseas y sudación nocturna. El SIDA se caracteriza por una evidente supresión del sistema inmunitario y por el desarrollo de neoplasias poco comunes (en especial sarcoma de Kaposi) o una gran variedad de infecciones oportunistas. Los síntomas más graves en los adultos van precedidos con frecuencia de una etapa prodrómica ("diarrea y decaimiento") que puede incluir fatiga, malestar, pérdida de peso, fiebre, disnea, diarrea crónica, placas blancas sobre la lengua (leucoplasia pilosa, candidiasis bucal) y linfadenopatía. Los síntomas de la enfermedad en el aparato gastrointestinal desde el esófago al colon son causa principal de debilidad. Sin tratamiento, el intervalo entre la infección primaria por VIH y la primera aparición de enfermedad clínica es generalmente prolongado en adultos, en promedio de 8 a 10 años. La muerte tiene lugar cerca de dos años más tarde.

A. Carga viral en plasma

La cantidad del VIH en la sangre (carga viral) es de valor pronóstico significativo. Existen ciclos continuos de replicación viral y de muerte de células en cada paciente, y la concentración estacionaria del virus en la sangre varía de una persona a otra. Esta concentración refleja el número total de células infectadas productoras de virus y la cantidad promedio de las células lisadas. Se ha observado que una sola medición de la carga viral plasmática alrededor de seis meses después de la infección, puede pronosticar el riesgo subsecuente de desarrollar SIDA varios años más tarde (figura 44-6). Sin embargo, datos recientes sugieren una diferencia de género en este parámetro; es decir, en las mujeres la carga viral puede ser menos predictiva de la evolución a SIDA. La concentración del RNA del VIH en el plasma se puede determinar al emplear varias pruebas disponibles en el comercio. La carga viral plasmática parece ser el mejor indicador pronóstico del resultado clínico a largo plazo, en tanto que las cifras de linfocitos CD4 son el mejor pronosticador del riesgo a corto plazo de desarrollar una enfermedad por oportunista. Las mediciones de la carga viral plasmática son un elemento decisivo en la evaluación de la eficacia del tratamiento farmacológico antirretroviral.

B. SIDA en pediatría

La situación es diferente en los neonatos infectados en comparación con los adultos infectados por VIH. En los pacientes pediátricos, el SIDA —contraído de madres en los grupos de alto riesgo— comúnmente presenta síntomas clínicos a los dos años de edad; la muerte se presenta en otros dos años. El neonato es particularmente susceptible a los efectos devastadores del VIH, debido a que su sistema inmunitario aún no se ha desarrollado en el momento de la infección primaria. Los datos clínicos pueden incluir neumonitis intersticial linfóide, neumonía, candidiasis bucal grave, encefalopatía,

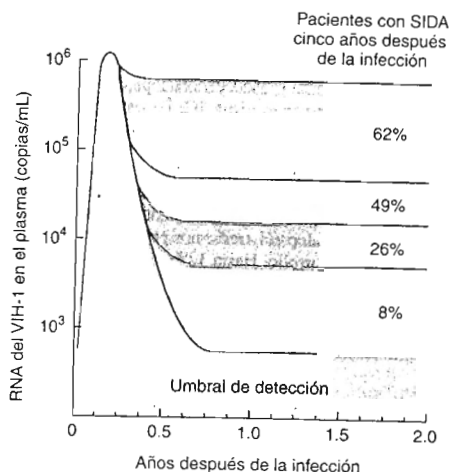


Figura 44-6. Valor pronóstico de las concentraciones del RNA del VIH-1 en el plasma (carga viral). El punto límite víremico predice el resultado clínico a largo plazo. (Reproducido con autorización de Ho DD: Viral counts count in HIV infection. Science 1996;272:1124.)

caquexia, linfadenopatía generalizada, septicemia bacteriana, hepatosplenomegalia, diarrea y falta de desarrollo.

Los niños con infección por VIH-1 contraída en el periodo perinatal, sin tratamiento tienen un pronóstico muy malo. En los primeros años de la vida la enfermedad evoluciona con gran rapidez. Una gran carga plasmática del VIH-1, al parecer pronostica un riesgo de evolución rápida de la enfermedad en lactantes. El patrón de replicación viral en los lactantes difiere del de los adultos. La magnitud de la carga de RNA viral generalmente es pequeña al nacer, lo cual sugiere infección adquirida cerca de ese tiempo; a continuación las concentraciones del RNA aumentan con rapidez en los primeros dos meses de vida, lo que va seguido de una declinación lenta hasta la edad de 24 meses; esto sugiere dificultad para detener la infección por inmadurez del sistema inmunitario. Un pequeño porcentaje de lactantes (menor o igual a 5%) presentan infección transitoria por VIH, lo cual sugiere que algunos lactantes pueden liberarse del virus.

C. Enfermedad neurológica

En las personas infectadas por VIH suele aparecer disfunción neurológica. De 40 a 90% de los pacientes presentan síntomas neurológicos, y durante la autopsia se ha observado que muchos presentan anomalías neuropatológicas.

Son frecuentes diversos síndromes neurológicos distintos, los cuales incluyen encefalitis subaguda, mielopatía vacuolar, meningitis aséptica y neuropatía periférica. El complejo demencia por SIDA, el síndrome neurológico más común, aparece como manifestación tardía en 25 a 65% de los pacientes con dicho padecimiento y se caracteriza por falta

de memoria, incapacidad para concentrarse, apatía, retardo psicomotor y cambio de conducta. Otras enfermedades neurológicas relacionadas con la infección por VIH incluyen la toxoplasmosis, la criptococosis, el linfoma primario del sistema nervioso central y la leucoencefalopatía multifocal progresiva inducida por el virus JC. La esperanza de vida promedio después del inicio de la demencia grave habitualmente es menor de seis meses.

Los pacientes pediátricos con SIDA también muestran anomalías neurológicas. Éstas incluyen trastornos convulsivos, pérdida progresiva de las conductas indicadoras del desarrollo, encefalopatía, trastornos por atención deficiente y retraso del desarrollo. Hasta 12% de los niños presentan encefalopatía por VIH, por lo general acompañada con deficiencia inmunitaria profunda. En el SIDA pediátrico predominan las bacterias patógenas como la causa más común de meningitis.

D. Infecciones por oportunistas

En las últimas etapas de la infección por VIH la causa principal de morbilidad y mortalidad en los pacientes son las infecciones por oportunistas, es decir, las infecciones graves inducidas por agentes que rara vez causan enfermedad grave en personas inmunocompetentes. Las infecciones por oportunistas por lo común no se presentan en pacientes infectados con el VIH hasta que los recuentos de células T CD4 se hayan reducido del valor normal de casi 1000 células/ μ L a menos de 200 células/ μ L. Conforme se ha logrado el tratamiento para algunos patógenos oportunistas comunes y el manejo de los pacientes con SIDA permite una esperanza de vida más prolongada, la diversidad de las infecciones por oportunistas ha cambiado.

Las infecciones más comunes por oportunistas en los pacientes con SIDA sin tratamiento incluyen las siguientes:

- 1) **Protozoarios:** *Toxoplasma gondii*, *Isospora belli*, especies de *Cryptosporidium*.
- 2) **Hongos:** *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Pneumocystis jirovecii*.
- 3) **Bacterias:** *Mycobacterium avium-intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Listeria monocytogenes*, *Naocardia asteroides*, especies de *Salmonella*, especies de *Streptococcus*.
- 4) **Virus:** Citomegalovirus, virus del herpes simple, virus de la varicela zoster, adenovirus, poliomavirus JC, virus de la hepatitis B virus de la hepatitis C.

La coinfección con virus de DNA puede conducir a una mayor expresión del VIH en las células *in vitro*. En los pacientes con SIDA son comunes las infecciones con herpesvirus, y se ha demostrado que el citomegalovirus produce una proteína que, al actuar como receptor de quimiocina, puede ayudar al VIH a infectar células. La retinitis por citomegalovirus es la complicación ocular grave más común del SIDA.

E. Cáncer

Los pacientes con SIDA muestran una notable predisposición al desarrollo de cáncer, otra consecuencia de la supresión

inmunitaria. Los tipos de cáncer vinculados con el SIDA son el linfoma no Hodgkin (tanto de tipo sistémico como del sistema nervioso central), el sarcoma de Kaposi, el cáncer cervicouterino, el cáncer anogenital y el linfoma de Hodgkin. Los linfomas son neoplasias policlonales de células B; en la mayor parte de los clasificados como linfoma de Burkitt y del sistema nervioso central (mas no en la mayoría de los linfomas sistémicos) se encuentra DNA viral del EB. El poliomavirus SV40 ha sido detectado en algunos linfomas no Hodgkin. El linfoma de Burkitt aparece con una frecuencia mil veces mayor en pacientes con SIDA que en la población general.

El sarcoma de Kaposi es un tumor vascular tal vez de origen endotelial que aparece en la piel, las mucosas, los ganglios linfáticos y los órganos viscerales. Antes de que se observara este tipo de malignidad en los pacientes con SIDA, se consideraba un cáncer muy raro. El sarcoma de Kaposi es ahora 20 mil veces más común en pacientes con SIDA no tratados que en la población general. El herpesvirus vinculado con el sarcoma de Kaposi, o HHV8, parece tener relación causal con el cáncer (véase capítulo 33). A veces, el cáncer anogenital se origina como resultado de la coinfección con papilomavirus humano (véase capítulo 43).

El tratamiento eficaz con fármacos antirretrovirales ha producido una reducción notable en la incidencia de sarcomas de Kaposi, pero ha tenido menos de un efecto en la incidencia de linfomas no Hodgkin en individuos infectados con el VIH.

Inmunidad

Las personas infectadas por VIH desarrollan respuestas mediadas por los sistemas inmunitarios humoral y celular contra los antígenos relacionados con el VIH. Poco después de la infección aparecen anticuerpos contra algunos antígenos virales (cuadro 44-3).

La mayor parte de los individuos infectados producen anticuerpos neutralizantes contra el VIH, dirigidos contra la glucoproteína de la cubierta. Sin embargo, los niveles de actividad neutralizante son bajos: muchos anticuerpos anticubierta son no neutralizantes. Se cree que la glucosilación densa podría inhibir la unión de anticuerpo neutralizante con la proteína de la cubierta. La glucoproteína de la cubierta muestra gran variabilidad de secuencia. Esta variación natural podría permitir la evolución de poblaciones sucesivas de virus resistentes que escapan al reconocimiento de anticuerpos neutralizantes existentes.

Los anticuerpos neutralizantes pueden cuantificarse *in vitro* por la inhibición de la infección por VIH en líneas celulares de linfocitos susceptibles. La infección viral se cuantifica por 1) valoración de la transcriptasa inversa que mide la actividad de la enzima de las partículas de VIH liberadas; 2) prueba de inmunofluorescencia indirecta, la cual mide el porcentaje de células infectadas; y 3) reacción en cadena de la polimerasa-transcriptasa inversa (RT-PCR) o prueba de amplificación del DNA de cadena ramificada que mide ácidos nucleicos del VIH.

Se desarrollan respuestas celulares dirigidas contra las proteínas del VIH. Los linfocitos T citotóxicos (LTC) reconocen los productos génicos *env*, *pol* y *gag*; esta reactivi-

Cuadro 44-3. Principales productos génicos del VIH útiles en el diagnóstico de la infección

Producto génico ¹	Descripción
gp160 ²	Precursor de las glucoproteínas de la cubierta
gp120 ²	Glucoproteína de la cubierta externa del virión, SU ³
p66	Transcriptasa inversa y RNasa H del producto génico de la polimerasa
p55	Precursor de las proteínas centrales, poliproteína del gen <i>gag</i>
p51	Transcriptasa inversa, RT
gp41 ²	Glucoproteína transmembrana de la cubierta, TM
p32	Integrasa, IN
p24 ²	Proteína de la nucleocápside del centro del virión, CA
p17	Proteína de la matriz central del virión, MA

¹Los números se refieren a la masa molecular aproximada de la proteína en kilodaltones.

²Los anticuerpos contra estas proteínas virales son los más comúnmente detectados.

³Abreviatura de dos letras para la proteína viral.

dad es mediada por el complejo mayor histocompatibilidad restringido a los linfocitos CD3 CD8. En casi todas las personas infectadas se observa reactividad específica para *env*, la cual disminuye con el avance de la enfermedad. También se ha detectado actividad de las células asesinas naturales (NK) contra las gp120 del VIH-1.

No está claro cuál de estas respuestas del huésped es importante para suministrar protección contra la infección por VIH o el desarrollo de la enfermedad. Un problema que confronta la investigación de una vacuna contra el SIDA es el desconocimiento de los indicadores de inmunidad protectora, incluso de la importancia relativa de las respuestas inmunitarias mediadas humoralmente y por células.

Diagnóstico de laboratorio

La evidencia de la infección por VIH puede detectarse de tres maneras: 1) aislamiento del virus, 2) determinación sérica de anticuerpos antivirales, y 3) medición de ácidos nucleicos o antígenos virales.

A. Aislamiento del virus

El VIH puede cultivarse de los linfocitos en sangre periférica (y en ocasiones de muestras de otros sitios). El número de células infectadas en la circulación varía con la etapa de la enfermedad (figura 44-5). En el plasma y las células de sangre periférica de los pacientes con SIDA se observan grandes títulos virales, en comparación con las personas asintomáticas. La magnitud de la viremia en el plasma parece correlacionarse mejor con la etapa clínica de la infección por VIH que con la presencia de cualquier anticuerpo (figura 44-7). La técnica más sensible para aislamiento del virus es el cultivo de la muestra junto con células mononucleares de sangre periférica no infectadas y estimuladas por mitó-

genos. Los aislados del VIH primarios crecen muy lentamente en comparación con las cepas adaptadas al laboratorio. El crecimiento viral se detecta investigando la actividad de la transcriptasa inversa viral o los antígenos (p24) específicos del virus en el líquido sobrenadante de un cultivo de 7 a 14 días.

La gran mayoría de las personas positivas a anticuerpos VIH-1 presentan virus en las células sanguíneas que pueden cultivarse. Sin embargo, las técnicas para el aislamiento del virus consumen tiempo, son laboriosas y están limitadas a los estudios de investigación. Las técnicas de amplificación mediante PCR se emplean con más frecuencia para detectar el virus en las muestras clínicas.

B. Serología

El tiempo promedio para la seroconversión después de la infección con el VIH es de 3 a 4 semanas. La mayor parte de los individuos tendrá anticuerpos detectables de 6 a 12 semanas después de la infección, en tanto que casi todos serán positivos en el plazo de seis meses.

Se dispone de estuches comerciales para medir anticuerpos mediante el análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Cuando la prueba se ejecuta de manera apropiada tiene una sensibilidad y una especificidad mayores de 98%. Cuando se emplea la prueba de ELISA basada en anticuerpos para la detección en poblaciones con escasa prevalencia de infección por VIH (p. ej., donadores de sangre), una prueba positiva en una muestra de suero debe confirmarse mediante la repetición de la misma. Si la nueva prueba ELISA es reactiva, se efectúa una prueba de confirmación para controlar los resultados falsos-positivos. La prueba de confirmación más ampliamente empleada es la técnica de *Western blot*, con la cual se pueden detectar anticuerpos del suero dirigidos contra las proteínas del VIH de peso molecular específico. Los anticuerpos a las proteínas p24 del centro viral o a las glucoproteínas gp41, gp120 o gp160 de la cubierta se detectan más comúnmente.

El patrón de respuesta contra antígenos virales específicos cambia con el tiempo a medida que los pacientes progresan hacia el SIDA. Los anticuerpos para las glucoproteínas se mantienen de la cubierta (gp41, gp120, gp160), pero disminuyen los que están dirigidos contra las proteínas *gag* (p17, p24, p55). La disminución de anti-p24 podría anunciar el comienzo de signos clínicos y otros marcadores inmunológicos del avance (figura 44-7).

Ya se encuentran disponibles pruebas rápidas muy sencillas para la detección de anticuerpos contra VIH, para utilizarse en laboratorios con pruebas de ELISA. Las pruebas rápidas se basan en principios como las reacciones de aglutinación y de inmuno-dot.

La mayoría de las personas presentan seroconversión menos de dos meses después de exposición al virus. La infección por VIH por tiempo mayor a seis meses sin anticuerpos detectables es muy rara.

C. Detección de ácidos nucleicos o de antígenos virales

Se emplean con frecuencia pruebas de amplificación como RT-PCR, pruebas DNA PCR y pruebas del DNA de cadena ramificada (bDNA) para detectar el RNA viral en muestras clínicas. En la prueba RT-PCR se emplea un método enzimático para amplificar el RNA del VIH; la prueba bDNA amplifica

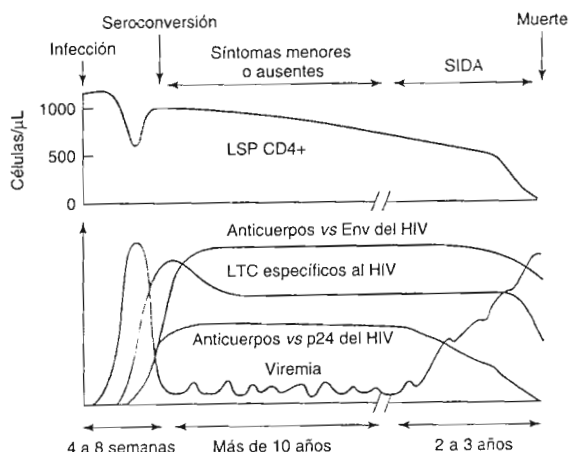


Figura 44-7. Patrón de respuesta de los anticuerpos al VIH correlacionados con el curso de la infección por VIH. (LSP, linfocitos en sangre periférica; LTC, linfocitos T citotóxicos). (Reproducido con autorización de Weiss RA: How does HIV cause AIDS? Science 1993;260:1273.)

el RNA viral mediante pasos secuenciales de hibridación de oligonucleótidos. Las pruebas pueden ser cuantitativas cuando se emplea un estándar de referencia; en cada prueba se deben incluir los controles positivos y negativos apropiados. Las nuevas pruebas moleculares son muy sensibles y constituyen la base para la determinación de la carga viral plasmática (descrita antes). La heterogeneidad de la secuencia del VIH podría limitar la sensibilidad de estas pruebas para detectar infecciones por VIH. La concentración de RNA del VIH es un marcador pronóstico importante de la evolución de la enfermedad y una herramienta valiosa con la cual se puede vigilar la eficacia de la terapéutica antiviral.

Mediante pruebas del RNA del VIH-1 en plasma se puede establecer el diagnóstico temprano de la infección por VIH, en los lactantes nacidos de madres infectadas. La presencia de anticuerpos maternos nulifica la capacidad diagnóstica de las pruebas serológicas.

Poco después de la infección pueden detectarse en el plasma concentraciones escasas del antígeno p24 del VIH-1 circulante mediante ELISA. Con frecuencia el antígeno se hace indetectable después del desarrollo de anticuerpos y puede reaparecer más tarde en el curso de la infección, lo cual indica mal pronóstico.

Epidemiología

A. Propagación del SIDA en el mundo

El SIDA fue reconocido por primera vez en EUA en 1981 como una nueva entidad patológica de varones homosexuales; 20 años más tarde el SIDA se ha convertido en una epidemia mundial que continúa extendiéndose. El programa conjunto de las Naciones Unidas sobre VIH/SIDA estimó

que a finales de 2002, habría un total de 42 millones de personas con la enfermedad, la mayor parte infectadas por contacto heterosexual (figura 44-8). Se estimaba que en ese año, 3.1 millones de personas murieron de SIDA y 5 millones de infecciones nuevas de VIH se presentaron, incluyendo a más de 600 000 recién nacidos infectados de manera perinatal. Para el año 2002, la Organización Mundial de la Salud estimó que habrían más de 24 millones de muertes en el mundo a causa del SIDA y que más de 14 millones de niños quedarían huérfanos.

La epidemia varía por región geográfica. Con base en la información del año 2002, África subsahariana presentó el mayor número de infecciones por VIH (figura 44-8). En ciertas ciudades de gran prevalencia en África, hasta 1 de cada 3 adultos está infectado con el virus. Las infecciones se diseminaron con rapidez en el sur y sudeste de Asia (en particular en India, Camboya, China y Rusia). Puesto que el SIDA tiende a atacar principalmente adultos jóvenes y trabajadores, la epidemia del SIDA ya muestra efectos devastadores en las estructuras sociales y económicas de algunos países.

Los virus del grupo M son los causantes de la mayor parte de infecciones por VIH-1 a nivel mundial, pero varían las distribuciones de subtipo. El subtipo C predomina en el sur de África, el subtipo A en África Occidental y el subtipo B en EUA, Europa y Australia. El VIH-2 ha permanecido localizado sobre todo en África Occidental.

La OMS estima que, de los cerca de 5 millones de nuevas infecciones que se producen cada año, 90% se presentan en países en desarrollo. En estos países el SIDA es una enfermedad transmitida de manera abrumadora por contacto heterosexual y existe un número casi igual de casos en hombres y mujeres.

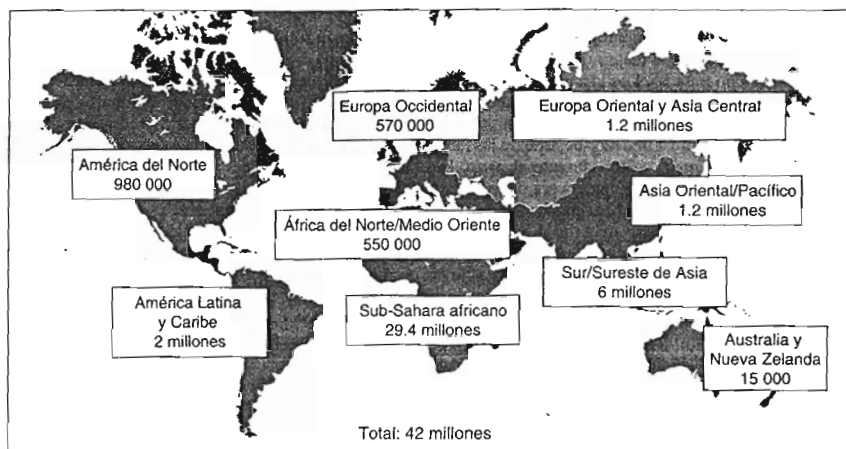


Figura 44-8. Estimación de adultos y niños vivos con VIH/SIDA por continente o región, en diciembre de 2002. Además, más de 24 millones de personas en el mundo ya han muerto a causa de SIDA. Datos obtenidos del Programa de las Naciones unidas para VIH/SIDA.

Una hipótesis atribuye la rápida diseminación del VIH durante los últimos decenios del siglo XX en todo el planeta a la migración masiva de habitantes rurales a los sitios urbanos, junto con el movimiento internacional de las personas infectadas debido a las guerras civiles, el turismo y los viajes de negocios.

B. EUA

En EUA las características de la epidemia del SIDA cambiaron entre 1981 y 2001. Al principio la mayor parte de los casos se observó en varones homosexuales. Después la enfermedad se identificó en adictos a drogas inyectadas. En diciembre de 2001 se reportaron más de 816 000 casos de SIDA (de los cuales, más de la mitad ya habían muerto). En 1994 fue la causa número uno de muerte entre hombres jóvenes de 25 a 44 años de edad (19% de todas las muertes). La tasa de mortalidad disminuyó por primera vez en 1996, como reflejo del empleo de la terapéutica antirretroviral combinada con la prevención de las infecciones secundarias por oportunistas.

En el decenio de 1990-99 el mayor incremento proporcional de casos de SIDA se dio en mujeres, gente de raza negra e hispanos, y en las personas expuestas al VIH a través de contacto heterosexual. La mayor parte de los casos de SIDA contraídos por vía heterosexual se atribuyen a contacto sexual con un adicto a drogas inyectadas o una pareja con infección por VIH. Para finales de 1998, por primera vez las minorías representaron más de la mitad de casos de SIDA entre los hombres homosexuales.

El SIDA en pacientes pediátricos aumenta conforme crece el número de mujeres infectadas por VIH. Se estima que 6 000 a 7 000 ha reducido drásticamente niños nacidos cada año de mujeres infectadas por VIH. En EUA se estima que 1 800 recién nacidos contrajeron el virus en 1991. El número de infecciones nuevas se redujo por el desarrollo de

terapéutica prenatal, intraparto y neonatal con zidovudina en el año de 1994 (véase después). En 2001 se dieron a conocer 101 casos de SIDA pediátrico.

C. Vías de transmisión

Los títulos altos de VIH se encuentran en dos líquidos corporales, sangre y semen. El VIH se transmite durante el contacto sexual (incluso sexo oral y genital), a través de exposición parenteral a sangre o productos de la sangre contaminados, y de madre a hijo durante el periodo perinatal. La presencia de otras enfermedades de transmisión sexual como sífilis, gonorrea o herpes simple 2 aumenta hasta 100 veces el riesgo de transmisión sexual del VIH, debido a que la inflamación y las lesiones ulcerosas facilitan la transferencia del VIH a través de las barreras mucosas. Las personas asintomáticas positivas al virus pueden transmitirlo. Desde la primera descripción del SIDA, la actividad homosexual promiscua se reconoció como el mayor factor de riesgo para contraer la enfermedad. El riesgo aumenta en proporción al número de encuentros sexuales con parejas diferentes.

La transfusión de sangre o de productos de la sangre infectados es una vía eficaz para transmitir el virus. Por ejemplo, en EUA más de 90% de los pacientes hemofílicos a quienes se administró concentrado de factores de coagulación contaminados (antes de la detección del VIH) desarrollaron anticuerpos al VIH. Los adictos a drogas inyectadas ilícitas comúnmente se infectan a través del uso de agujas contaminadas. El uso de drogas intravenosas explica una proporción sustancial de nuevos casos de SIDA.

Para garantizar el suministro de sangre segura se requieren pruebas cuidadosas. La Organización Mundial de la Salud informó que los donadores voluntarios de sangre no remunerados son mucho más seguros que los donadores pagados. En 1996 se informó en EUA que el riesgo de in-

fección por VIH transmitido por transfusión fue muy pequeña (1:500 000 aproximadamente).

Las tasas de transmisión materno-infantil varían de 13 a 48% en mujeres no tratadas. Los lactantes pueden infectarse *in utero*, durante el nacimiento, o más comúnmente a través de la alimentación materna. En ausencia de la alimentación al seno materno, alrededor de 30% de las infecciones tienen lugar *in utero* y 70% durante el parto. Los datos disponibles indican que de una tercera parte hasta la mitad de las infecciones por VIH perinatales en África se deben a la alimentación al seno materno. La transmisión durante la lactancia por lo general se suscita muy tempranamente (alrededor de los seis meses). Las grandes cargas virales maternas son un factor de riesgo, pero no explican por completo la transmisión vertical del VIH-1, lo cual indica que son importantes otros factores.

Los trabajadores de la salud pueden infectarse por VIH después de un pinchazo con aguja contaminada con sangre infectante. El número de infecciones es relativamente escaso en comparación con el número de pinchazos que se han producido implicando sangre contaminada el riesgo de transmisión se estima en aproximadamente 3%.

Las rutas de transmisión (sangre, actividad sexual y parto) descritas explican casi todas las infecciones por VIH, pero hay gran preocupación que puedan presentarse otros tipos de transmisión en raras circunstancias, como a través de contacto "casual" con personas infectadas por VIH, o insectos vectores, pero no hay evidencia de transmisión del virus en estas condiciones casuales.

Prevención, tratamiento y control

A. Antivirales

Un número creciente de fármacos antivirales han sido aprobados para el tratamiento de infección por VIH (véase capítulo 30). Las clases de fármacos incluyen análogos de nucleósidos y no nucleósidos inhibidores de la enzima viral transcriptasa reversa e inhibidores de la enzima proteasa viral. Los inhibidores de la proteasa son antivirales potentes, debido a que la actividad de proteasa es absolutamente indispensable para la producción de virus infectante y la enzima viral es distinta de las proteasas de las células humanas. La clase más reciente de fármacos, inhibidores de fusión aprobados por primera vez en 2003, bloquea la entrada del virus a las células.

El tratamiento con combinaciones de fármacos antivirales, referida como terapia antirretroviral altamente activa (TARAA), comenzó a aplicarse en 1996. Esta terapia muy a menudo tiene la capacidad para suprimir la replicación viral hasta límites por debajo de los detectables en plasma, para disminuir las cargas virales en tejidos linfoides, permitir la recuperación de las respuestas inmunes a patógenos oportunistas y prolongar la sobrevivencia del paciente; sin embargo, la TARAA no ha logrado curar las infecciones por el VIH-1. El virus persiste en reservorios de células infectadas de manera latente y con una larga vida, incluyendo las células T CD4 de memoria. Cuando la TARAA se discontinúa o falla el tratamiento, la producción viral resurge.

La terapia triple (tres fármacos antivirales) también ha demostrado ser efectiva en niños preescolares y escolares

infectados por el VIH. Un estudio realizado en Italia, reportado en el 2000, encontró que la terapia triple redujo la incidencia de mortalidad infantil debida a SIDA casi 70%.

Mientras la monoterapia generalmente resulta en la rápida producción de VIH mutantes fármaco-resistentes, la terapia combinada, dirigida contra múltiples pasos de la replicación viral, suele retardar la selección de VIH mutantes. No obstante, los mutantes emergentes que son resistentes a un inhibidor de proteasa a menudo resultan también resistentes a otros inhibidores de proteasa.

Los resultados con terapia combinada han sido exitosos y han convertido la infección por VIH en una enfermedad crónica tratable. Se puede lograr la supresión prolongada de replicación viral, junto con el restablecimiento de la función inmune. Sin embargo, todavía se requiere el desarrollo de otros fármacos. Los regímenes farmacológicos actuales son complicados y costosos, no se toleran bien en todos los pacientes, poseen efectos colaterales altamente tóxicos, incluyendo lipodistrofia, y conducen a un número muy significativo de fracasos terapéuticos la mayoría de las personas infectadas en todo el mundo no tienen acceso a estos fármacos.

Se ha observado que la zidovudina (azidotimidina, AZT) reduce de manera significativa la transmisión del VIH de la madre al hijo. Un régimen terapéutico con AZT para la madre durante el embarazo y en el proceso del parto, y para el recién nacido después del nacimiento, reduce el riesgo de transmisión perinatal en 65 a 75% (desde casi 25 a 8% o menos). Este tratamiento disminuye la transmisión vertical con todos los valores de la carga viral materna. Un esquema más corto de AZT administrado a madres infectadas ha demostrado disminuir la transmisión vertical en casi 50% y parece que su uso es seguro en naciones en vías de desarrollo. Sin embargo, la tasa alta de transmisión de VIH al amamantar puede minar los beneficios del tratamiento perinatal con fármacos.

B. Vacunas contra el VIH

Una vacuna segura y efectiva sería la mejor opción para controlar la epidemia mundial del SIDA. Desde 2003, muchas vacunas candidato están en desarrollo y están en diferentes etapas de prueba. Las vacunas virales clásicas son preventivas, es decir, se administran a personas no infectadas para prevenir la infección o la enfermedad. También se considera la posibilidad de las vacunas VIH terapéuticas, con las cuales serían tratadas personas VIH-infectadas para reestimar las respuestas inmunitarias anti-VIH con nuevas dosis de refuerzo, disminuir el número de células infectadas por el virus, o retardar el inicio del SIDA. Es difícil desarrollar una vacuna debido a las rápidas mutaciones del VIH, a que no se expresa en todas las células infectadas, y a que después de la infección primaria el sistema inmunitario del huésped no puede liberarse por completo del virus. Los VIH aislados muestran una notable variación, sobre todo en los antígenos de la cubierta —variabilidad que probablemente favorece el surgimiento de mutantes resistentes a la neutralización—. Lo más problemático es que se desconocen las correlaciones con la inmunidad protectora, por tanto no está claro cuál es la respuesta inmunitaria que debe inducir la vacuna.

Dada la dificultad de garantizar seguridad, hay temor de considerar vacunas basadas en VIH atenuado o inacti-

vado
nant
pure
con
Se in
nació
señal
altera
siste

la fal
pance
sumi
mento
mundo
por V
desar

C. M
En au
mane
estilo
factor
proba
comun
contac

P
todos
bas en
practi
dos los
de las
en los
minada
mente

L
toda p
guiente

1. Lo
nas
des
2. Au
tir
to n
3. Las
gre
4. Exi
gin
agu
de e
aun
5. No
rasu
nars
6. Las
sexu
de e
tami
7. Des
ben

vado, o en aislados simianos. La proteína viral recombinante —en especial las glucoproteínas de la cubierta— parece ser el candidato más viable, administrada ya sea con adyuvantes o mediante vectores virales heterólogos. Se investiga un gran número de métodos nuevos de vacunación. Están en desarrollo técnicas de terapia génica diseñadas para lograr "inmunización intracelular", es decir, alterar genéticamente las células blanco para hacerlas resistentes al VIH.

Una gran dificultad para el desarrollo de la vacuna es la falta de un modelo animal apropiado para el VIH. El chimpancé es el único animal susceptible al virus. No sólo el suministro es escaso, sino también los chimpancés únicamente desarrollan viremia y anticuerpos; no presentan inmunodeficiencia. El modelo de monos con SIDA simiano por VTS desarrolla la enfermedad y es útil para estudiar el desarrollo de vacunas.

C. Medidas de control

En ausencia de control por fármacos o vacunas, la única manera de evitar la propagación del VIH es mantener un estilo de vida con reducción al mínimo o eliminación de los factores de riesgo analizados previamente. No se ha comprobado caso alguno como resultado de exposiciones tan comunes como estornudo, tos, compartir alimentos u otros contactos casuales.

Puesto que el VIH puede transmitirse por la sangre, todos los donadores de sangre deben ser sometidos a pruebas en busca de anticuerpos. Las pruebas de anticuerpos practicadas de manera apropiada parecen detectar casi todos los portadores de VIH-1 y VIH-2. Desde la institución de las pruebas de detección para investigar exposición viral en los donadores de sangre y el rechazo de la sangre contaminada, la transmisión por transfusión sanguínea prácticamente ha desaparecido.

Las autoridades de salud pública recomiendan que a toda persona con infección por VIH se le suministre la siguiente información y orientación:

1. Los datos disponibles indican que casi todas las personas permanecen infectadas durante el resto de su vida y desarrollarán la enfermedad.
2. Aunque asintomáticas, estas personas pueden transmitir el VIH a otros. Se aconseja evaluación y seguimiento médico regular.
3. Las personas infectadas deben abstenerse de donar sangre, plasma, órganos, otros tejidos o semen.
4. Existe riesgo de infectar a otros a través del coito (vaginal o anal), por contacto bucogenital, o por compartir agujas hipodérmicas. El uso consistente y apropiado de condones puede reducir la transmisión del virus, aunque la prevención no es absoluta.
5. No deben compartirse cepillos dentales, máquinas de rasurar y otros utensilios, los cuales pueden contaminarse con sangre.
6. Las mujeres seropositivas o las mujeres con parejas sexuales seropositivas se encuentran en mayor riesgo de contraer SIDA. Si se embarazan, sus descendientes también están en gran riesgo de contraer SIDA.
7. Después de accidentes que causan hemorragia, se deben lavar las superficies contaminadas con blanquea-

dor doméstico recién diluido 1:10 en agua.

8. Los dispositivos que han punccionado la piel, por ejemplo agujas hipodérmicas y de acupuntura, deben ser esterilizados con vapor en autoclave antes de reutilizarlos o deben desecharse con observancia de las medidas de seguridad. Los instrumentos dentales deben esterilizarse con calor después de cada paciente. Siempre que sea posible se deben emplear agujas y equipo desechables.
9. Cuando solicitan atención médica o dental por enfermedades intercurrentes, las personas infectadas deben informar a los encargados de atenderlos que son seropositivos para que se inicie la evaluación apropiada y se tomen las precauciones necesarias con objeto de evitar la transmisión a otros.
10. Se deben ofrecer pruebas para anticuerpos al VIH a las personas que pudieran estar infectadas como resultado de contacto con individuos seropositivos (p. ej., pareja sexual, personas con quienes han compartido agujas, lactantes nacidos de madres seropositivas).
11. La mayoría de las personas con prueba positiva para el VIH no necesitan considerar cambio de empleo a menos que su trabajo implique posibilidad significativa de que otros se expongan a su sangre y otros líquidos corporales. No hay evidencia de transmisión viral por manejo de alimentos.
12. Los profesionales de la salud seropositivos, quienes ejecutan procedimientos invasores o padecen lesiones en la piel, deben tomar precauciones similares a las recomendadas para los portadores de la hepatitis B con objeto de proteger a los pacientes del riesgo de infección.
13. Los niños VIH positivos pueden asistir a la escuela, puesto que el contacto casual persona-persona con sus condiscípulos no entraña riesgo alguno. Sin embargo, es aconsejable un ambiente más restringido para los niños preescolares o los niños sin control de las secreciones corporales, de quienes en su conducta acostumbra morder, o tienen lesiones rezumantes.

D. Educación para la salud

En ausencia de vacuna o tratamiento, la prevención de los casos de SIDA se basa en el éxito de proyectos educativos los cuales implican cambios de conducta. Los mensajes de educación para la salud dirigidos al público en general se pueden resumir de la manera siguiente: 1. Cualquier acto sexual (aparte de las relaciones mutuamente monógamas entre personas negativas al anticuerpo VIH) debe realizarse con protección mediante uso de condón. 2. No compartir agujas o jeringas no estériles. 3. Toda mujer con posible exposición debe solicitar prueba de anticuerpos VIH antes de embarazarse y, si la prueba es positiva, considerar no embarazarse. 4. Las madres infectadas por VIH no deben alimentar al seno materno a su hijo si disponen de otras opciones para alimentarlo, con objeto de reducir la transmisión del virus.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. El VIH-1 se clasificó como miembro del género *Lentivirus* en la familia *Retroviridae*. Los *Lentivirus*:
A. Contienen un genoma de DNA

- B. Causan tumores en ratones
C. Infectan las células del sistema inmune
D. Tienen secuencias relacionadas endógenas en células normales
E. Causan enfermedad neurológica que avanza con rapidez
2. El VIH-1 codifica una glucoproteína de la cubierta, gp120. Esta proteína
A. Causa fusión de membrana:
B. Se une al correceptor viral en la superficie de la célula
C. Se conserva bien entre diferentes aislados
D. No obtiene como respuesta anticuerpo neutralizante
E. Induce producción de quimiocina
3. El VIH/SIDA se ha convertido en una epidemia a global que continúa en expansión. En 2003, el área geográfica que tenía el número más grande de personas infectadas con el VIH después de la región de África situada al sur del desierto del Sáhara es:
A. América Central y Sudamérica y el Caribe
B. Este de Asia, incluyendo China
C. Norteamérica
D. Sur y el este de Asia
E. Europa Oriental y Asia Central
4. El curso normal de una infección por VIH no tratada se extiende durante 10 años o más. Hay por lo común un período largo (latencia clínica) entre el momento de la infección primaria por VIH y el desarrollo del SIDA. Durante este período de latencia clínica:
A. El VIH no es detectable en el plasma
B. Los recuentos de células CD4 permanecen sin cambio
C. El virus no se puede transmitir a otros
D. El virus está presente en órganos linfoides
E. No se provocan anticuerpos neutralizantes
5. Las coinfecciones virales se presentan en individuos infectados con VIH-1 y podrían contribuir a la morbilidad y mortalidad. La coinfección más común en personas positivas al VIH-1 en EUA está relacionada con:
A. Virus de la hepatitis C
B. Virus de la hepatitis D
C. Virus de la inmunodeficiencia humana tipo 2
D. Virus linfotrópico T humano
E. Herpesvirus de sarcoma de Kaposi
6. ¿Cuál de los siguientes individuos podría tener mayor riesgo de adquirir una infección por VIH?
A. Una mujer de la tercera edad que vive en la misma casa con un pariente que es VIH positivo
B. Un turista en Botswana que tiene relaciones sexuales con una prostituta
C. Una recepcionista en una clínica para SIDA en un hospital
D. Un maestro con un niño VIH positivo en su salón de clases
E. Un jugador de beisbol cuyo compañero de equipo es VIH positivo
7. Una enfermera de 36 años de edad se pincha con una aguja con sangre de un paciente VIH positivo. Seis meses después, el suero de la enfermera resultó positivo en una prueba EIA, dio resultados erróneos en una nueva prueba EIA y dio negativo en una prueba Western blot. La enfermera:
A. Probablemente está infectada con el VIH
B. Está en el periodo entre la infección aguda con VIH y seroconversión
C. Es probable que no esté infectada con el VIH
D. Quizá esté infectada con una cepa de VIH resistente a fármacos
E. Podría tratarse de una persona en la que la enfermedad no avanza por largo tiempo
8. A un varón de 41 años de edad infectado con el VIH que ha rechazado el tratamiento antirretroviral se le diagnostica infección por *Pneumocystis jirovecii*. Este paciente:
A. Probablemente tiene un recuento de células T CD4 menor de 200 células/ μ L
B. Tiene un alto riesgo de cáncer pulmonar
C. Tiene una esperanza de vida de cinco años
D. Es probable que tenga concentraciones decrecientes de viremia plasmática
E. Es improbable que desarrolle demencia en esta etapa
9. Un varón de 48 años de edad VIH positivo con un recuento de células CD4 de 40 se queja con su médico de pérdida de la memoria. Cuatro meses después, sufre parálisis y muere. En la autopsia se encuentra desmielinización de muchas neuronas en el cerebro y en el microscopio electrónico se observan grupos de partículas virales sin cubierta en las neuronas. La causa más probable de la muerte es:
A. Adenovirus tipo 12
B. Coxsackievirus B2
C. Parvovirus B19
D. Virus Epstein-Barr
E. Virus JC
10. El tratamiento de combinación antirretroviral muy activa para la infección por VIH normalmente incluye un inhibidor de proteasas, como saquinavir. Este inhibidor de proteasas:
A. Es eficaz contra VIH-1 pero no contra VIH-2
B. Pocas veces da lugar a mutantes resistentes de VIH
C. Inhibe un paso tardío en la replicación del virus
D. Degrada al receptor de CD4 en las células
E. Interfiere con la interacción del virus con el correceptor

Respuestas: 1 = C; 2 = B; 3 = D; 4 = D; 5 = A; 6 = B; 7 = C; 8 = A; 9 = E; 10 = C

REFERENCIAS

- De Cock KM *et al.*: Prevention of mother-to-child HIV transmission in resource-poor countries : translating research into policy and practice. *JAMA* 2000;283:1175.
- Desrosiers RC: Nonhuman lentiviruses. In : *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Dybul M *et al.* (editors): Guidelines for using antiretroviral agents among HIV-infected adults and adolescents: The Panel on Clinical Practices for HIV. *Ann Intern Med* 2002;137:381.
- Finzi D, Siliciano RF: Viral dynamics in HIV-1 infection. *Cell* 1998;93:665.
- Freed EO, Martin MA: HIVs and their replication. In: *Fields Virology*, 4th ed. Knipe DM *et al.* (editors). Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- Hahn BH *et al.*: AIDS as a zoonosis: Scientific and public health implications. *Science* 2000;287:607.
- Hanson CG, Shearer WT: AIDS and other acquired immunodeficiencies. In: *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*, 4th ed. Feigin RD, Cherry JD (editors). Saunders, 1998.
- Moore JP, Doms RW: The entry of entry inhibitors: A fusion of science and medicine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:10598.

- Nakashima AK, Fleming PL: HIV/AIDS surveillance in the United States, 1981-2001. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003;32(Suppl 1):S68.
- 1997 revised guidelines for performing CD4 T-cell determinations in persons infected with human immunodeficiency virus (VIH). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997;46(RR-2).
- Patrick MK, Johnston JB, Power C: Lentiviral neuropathogenesis: Comparative neuroinvasion, neurotropism, neurovirulence, and host neurosusceptibility. *J Virol* 2002;76:7923.
- Schreiber GB *et al.*: The risk of transfusion-transmitted viral infections. *N Engl J Med* 1996;334:1685.
- Selik RM, Rabkin CS: Cancer death rates associated with human immunodeficiency virus infection in the United States. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:1300.
- Sepkowitz KA: AIDS—the first 20 years. *N Engl J Med* 2001;344:1764.
- U.S. Public Health Service guidelines for testing and counseling blood and plasma donors for human immunodeficiency virus type 1 antigen. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1996;45(RR-2).

SECCIÓN V

Micología

Micología médica

Thomas G. Mitchell, PhD*

La micología es el estudio de los hongos. Existen más de 50 000 especies de hongos, de los cuales la mayor parte son benéficas para la humanidad. Se encuentran en la naturaleza y son imprescindibles para descomponer y reciclar la materia orgánica. Algunos hongos aumentan mucho nuestra calidad de vida, pues contribuyen a la producción de alimentos y bebidas espirituosas. Otros hongos han servido como medicamentos al suministrar metabolitos secundarios bioactivos útiles como los antibióticos (p. ej., penicilina) y los fármacos inmunodepresores (p. ej., ciclosporina). Los hongos han sido aprovechados por genetistas y biólogos moleculares como modelos de sistemas para la investigación de varios procesos eucarióticos. Los hongos ejercen su mayor impacto económico como fitopatógenos; cada año las industrias agrícolas sufren pérdidas considerables en las cosechas, debido a enfermedades causadas por hongos en las plantas. Por fortuna, sólo unos pocos cientos de especies de hongos participan en enfermedades humanas y 90% de esas micosis pueden atribuirse a unas cuantas docenas de hongos.

Todos los hongos son microorganismos eucariontes y cada célula fúngica posee al menos un núcleo y membrana nuclear, retículo endoplásmico, mitocondrias y aparato secretor. La mayor parte de los hongos son aerobios obligados o facultativos. Son quimiotróficos, secretores de enzimas que descomponen gran variedad de sustratos orgánicos para dar nutrientes solubles, que después se absorben pasivamente o son captados por la célula mediante transporte activo.

Las infecciones por hongos son las micosis. La mayor parte de los hongos patógenos son exógenos, siendo sus hábitats naturales el agua, el suelo y los desechos orgánicos. Las micosis con mayor incidencia, la candidiasis y las dermatofitosis, son causadas por hongos que forman parte de la flora microbiana normal o están muy adaptados para sobrevivir en el huésped humano. Las micosis pueden clasificarse, por conveniencia, como superficiales, cutáneas, subcutáneas, sistémicas y oportunistas (cuadro 45-1). La agrupación de las micosis en estas categorías refleja su puerta de entrada usual y el sitio inicial de afección. Sin embargo,

hay una considerable superposición, puesto que las micosis sistémicas pueden mostrar manifestaciones subcutáneas, y viceversa. La mayoría de los pacientes con infecciones oportunistas presentan enfermedad subyacente y compromiso grave de las defensas del huésped. Pero en estos pacientes también se observan micosis sistémicas primarias, y los hongos oportunistas también infectan personas inmunocompetentes. Durante la infección, la mayoría de los pacientes desarrollan una respuesta inmunitaria significativa, celular y humoral, a los antígenos del hongo.

En el último decenio se ha incrementado la incidencia de infecciones micóticas. Los hongos patógenos no producen toxinas potentes, y el mecanismo patogénico de los hongos aún es poco entendido. La mayor parte de las micosis son difíciles de tratar. Por fortuna, hay un creciente interés en los hongos de importancia médica, así como en la búsqueda de los factores de virulencia y de los posibles blancos terapéuticos.

PROPIEDADES GENERALES Y CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS

Según se indicó en el capítulo 1, los hongos crecen en dos formas básicas: **levaduras** y **mohos**. El crecimiento en forma de moho produce colonias filamentosas multicelulares. Estas colonias consisten en túbulos cilíndricos ramificados denominados **hifas**, cuyo diámetro varía de 2 a 10 μm . La masa de hifas enmarañadas que se acumula durante el crecimiento activo es un **micelio**. Algunas están divididas en celdillas por paredes transversas o **septa**, formados típicamente a intervalos regulares durante el crecimiento de la hifa. Una clase de mohos de importancia médica, los cigomicetos, produce hifas rara vez septadas. Las hifas que penetran al medio de apoyo y absorben nutrientes son las hifas vegetativas o del sustrato. Por el contrario, las hifas aéreas se extienden por encima de la superficie del micelio y generalmente poseen las estructuras reproductivas del moho. En condiciones estandarizadas de crecimiento en el laboratorio, los mohos producen colonias con rasgos característicos como tasa de crecimiento, textura y pigmentación. El género, y en ocasiones la especie, de la mayor parte de los hongos aislados en la clínica se puede determinar

* Profesor Asociado, Departamento de Genética Molecular y Microbiología, Duke University Medical Center Durham, North Carolina.

Cuadro 45-1. Principales micosis y hongos causantes

Tipo de micosis	Agentes causantes	Micosis
Superficial	Especies de <i>Malassezia</i> <i>Hortaea werneckii</i> Especies de <i>Trichosporon</i> <i>Piedraia hortae</i>	Pitiriasis versicolor Tiña negra Piedra blanca Piedra negra
Cutánea	Especies de <i>Microsporum</i> , <i>Trichophyton</i> y <i>Epidermophyton floccosum</i> <i>Candida albicans</i> y otras especies de <i>Candida</i>	Dermatofitosis Candidiasis de piel, mucosa o uñas
Subcutánea	<i>Sporothrix schenckii</i> <i>Phialophora verrucosa</i> , <i>Fonsecaea pedrosoi</i> y otros <i>Pseudallescheria boydii</i> , <i>Madurella mycetomatis</i> y otros <i>Exophiala</i> , bipolar, <i>exserohilum</i> y otros	Esporotricosis Cromoblastomycosis Micetoma Faohitomicosis
Endémica (primaria, sistémica)	<i>Coccidioides immitis</i> , <i>C. posadasii</i> <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Blastomyces dermatitidis</i> <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Coccidioidomicosis Histoplasmosis Blastomycosis Paracoccidioidomicosis
Oportunista	<i>Candida albicans</i> y otras especies de <i>Candida</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> y otras especies de <i>Aspergillus</i> Especies de <i>Rhizopus</i> , <i>Absidia</i> , <i>Mucor</i> y otros cigomicetos <i>Penicillium marneffei</i>	Candidiasis sistémica Criptococosis Aspergilosis Mucormicosis (cigomicosis) Peniciliosis

mediante el examen microscópico de la ontogenia y morfología de sus esporas reproductivas asexuales, o conidios (figuras 45-1 a 45-9).

Las levaduras son células únicas, por lo general de forma esférica a elipsoide cuyo diámetro varía de 3 a 15 μm . La mayor parte de las levaduras se reproducen por gemación. Algunas especies producen yemas que típicamente no se desprenden y se alargan; entonces el proceso continuo de gemación produce una cadena de células alargadas de levaduras denominadas **seudohifas**. Las colonias de levaduras comúnmente son blandas, opacas, de 1 a 3 mm de longitud, y de color cremoso. Puesto que las colonias y la morfología microscópica de muchas levaduras es muy similar, las especies de levaduras se identifican con base en

pruebas fisiológicas y unas pocas diferencias morfológicas claves. Algunas especies son hongos dimorfos, capaces de crecer como levaduras o mohos según las condiciones del ambiente.

Todos los hongos poseen una pared celular fundamental rígida que determina su forma. Las paredes celulares se componen principalmente de capas de carbohidratos— cadenas largas de polisacáridos— y también glucoproteínas y lípidos. Durante la infección las paredes celulares fúngicas muestran importantes propiedades patobiológicas. Los componentes de la superficie de la pared celular median la adherencia del hongo a las células huésped. Los polisacáridos de la pared celular pueden activar la cascada del complemento y provocar una reacción inflamatoria; son escasas

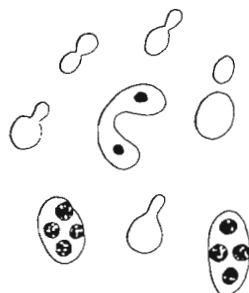


Figura 45-1. *Saccharomyces*. Células en gemación de levadura o blastoconidio. Blastoconidios conjugantes. Las ascas contienen ascosporas.

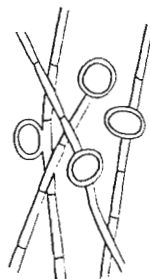


Figura 45-2. Clamidoconidios terminales e intercalados (clamidomiosporas).

Figura 45-3. *Trichosporon*

mente
color
nos in
muni
levad
gracia
dema
virule

o mol
menta
con fa
sas y p
to son
repro
leomó
genie
idénti
pos pr
cigom
forma
mohos
bién s
multic

© Copyright 2012 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Figura 45-4. *Aspergillus*

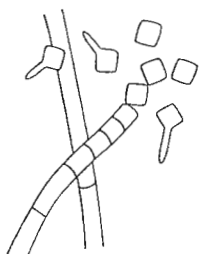


Figura 45-3. *Geotrichum*. Formación de artroconidio (artróspora). Artroconidio germinante.

mente degradados por el huésped y se pueden detectar con colorantes especiales. Las paredes celulares liberan antígenos inmunodominantes que pueden inducir respuesta inmunitaria celular y anticuerpos diagnósticos. Algunas levaduras y mohos tienen paredes celulares melaninizadas gracias a un pigmento marrón o negro. Éstos son hongos **dematiáceos**. Varios estudios relacionan la melanina con la virulencia.

Además de su crecimiento vegetativo como levaduras o mohos, los hongos pueden producir esporas para incrementar su supervivencia. Las esporas pueden dispersarse con facilidad, son más resistentes a las condiciones adversas y pueden germinar cuando las condiciones de crecimiento son favorables. Las esporas pueden derivarse por reproducción asexual o sexual; estados anamórfico y teleomórfico, respectivamente. Las esporas asexuales son prole mitótica (es decir, mitosporas) y genéticamente idénticas. Los hongos de interés médico producen dos tipos principales de esporas asexuales, las **conidios** y, en los cigomicetos, las **esporangiosporas**. Las características informativas de las esporas incluyen su ontogenia (algunos mohos producen estructuras conidiógenas complejas) y también su morfología (tamaño, forma, textura, color y uni o multicelularidad). En algunos hongos las células vegetati-

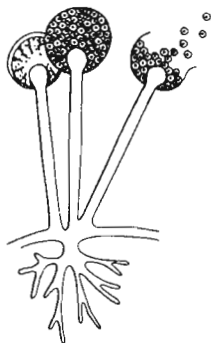


Figura 45-4. *Rhizopus*. Esporangios y esporangiosporas en desarrollo, y rizoide.

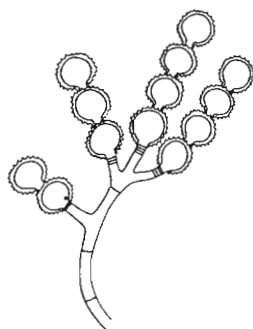


Figura 45-5. *Scopulariopsis*. Los conidióforos poseen ané-lides que producen cadenas de conidios. El conidio terminal es más viejo.

vas pueden transformarse en conidios (p. ej., artroconidio, clamidosporas). En otros, una célula conidiógena, como una fiálide, que puede estar unida a una hifa especializada llamada conidiófora, produce los conidios. En los cigomicetos, las esporangiosporas resultan de la replicación mitótica y de la producción de esporas dentro de una estructura sacular, denominada esporangio, sostenida por un esporangióforo.

Clasificación

La clasificación de los hongos se basa en el mecanismo de reproducción sexual y las esporas que resultan, lo que implica, en la mayor parte de los casos, cepas que pueden aparearse, fusión nuclear, meiosis e intercambio de información genética. Los principales grupos taxonómicos se presentan posteriormente. Se puede reconocer y definir una especie con base en su estado asexual, (p.ej., imperfecto o anamórfico) pero su estado teleomórfico, o identidad sexual, puede tener un nombre diferente.

A. Cigomicetos

La reproducción sexual genera una cigospora; la reproducción asexual tiene lugar a través de esporangios. Las hifas

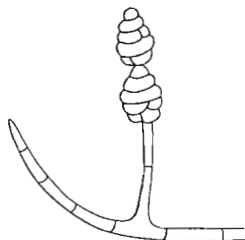


Figura 45-6. *Alternaria*. Cadenas de macroconidios multicelulares dematiáceos. El conidio terminal es el más joven.

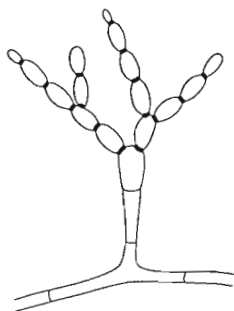


Figura 45-7. *Cladosporium*. Cadenas de blastoconidio. El conidio terminal es más joven y ha gemado del conidio subterminal.

vegetativas están poco septadas. Ejemplos: *Rhizopus*, *Absidia*, *Mucor*, *Pilobolus*.

B. Ascomycetos

La reproducción sexual implica un saco o *ascus* en el cual se presentan cariogamia y meiosis y se producen ascosporas. La reproducción asexual se da por conidios. Los mohos poseen hifas septadas. Ejemplos: *Ajellomyces* (género anamórfico, *Blastomyces*, *Histoplasma*), *Arthroderma* (género anamórfico, *Microsporium*, *Trichophyton*) y género levadura, como los *Saccharomyces*.

C. Basidiomicetos

La reproducción sexual produce una progenie de cuatro basidiosporas apoyadas por un basidio en forma de raqueta. Las hifas poseen *septos* complejos. Ejemplos: hongos seta, *Filobasidiella neoformans* (anamorfo, *Cryptococcus neoformans*).

D. Deuteromicetos

Es un agrupamiento artificial de hongos imperfectos en los cuales no se ha descubierto una teleomorfa o reproducción

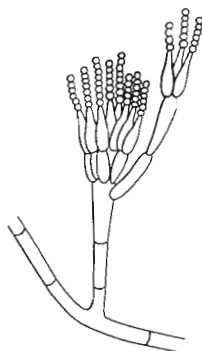


Figura 45-8. *Penicillium*. Las cadenas de conidios son producidas por filalides apoyadas por conidióforos ramificados. El conidio terminal es el más viejo.

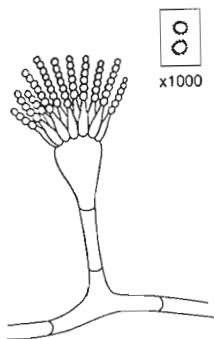


Figura 45-9. *Aspergillus fumigatus*. Se forman filalides en la punta de la vesícula ensanchada en el extremo de un conidióforo largo. El conidio terminal es el más viejo. El conidio maduro es pigmentado y de paredes ásperas.

sexual. El estado anamórfico se caracteriza por conidios asexuales. Cuando se descubre un ciclo sexual en una especie, ésta se reclasifica para reflejar de manera apropiada su filogenia. Ejemplos: *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Candida albicans*.

CRECIMIENTO Y AISLAMIENTO DE LOS HONGOS

La mayor parte de los hongos se encuentra en la naturaleza y crece con facilidad sobre fuentes simples de nitrógeno y carbohidrato. Clásicamente se utiliza agar de Sabouraud que contiene glucosa y peptona modificada (pH 7.0), debido a que no apoya fácilmente el crecimiento de las bacterias. Las características morfológicas empleadas para identificar los hongos se describen según su crecimiento sobre agar de Sabouraud. Sin embargo, otros medios, como el agar inhibidor de mohos, facilitan la recuperación de los hongos en las muestras clínicas. Para cultivar los hongos de interés médico de las muestras estériles se añaden antibióticos antibacterianos (p. ej., gentamicina, cloramfenicol) y cicloheximida al medio para inhibir bacterias y mohos saprofíticos, respectivamente. Las muestras empleadas para aislar los hongos y otros medios empleados para el aislamiento se estudian en el capítulo 48.

MICOSIS SUPERFICIALES

PITIRIASIS VERSICOLOR

La pitiriasis versicolor es una infección superficial leve crónica del estrato córneo causada por *Malassezia globosa*.

restringida y otros miembros del complejo *M. furfur*. La invasión de la piel cornificada y la respuesta del huésped son mínimas. Aparecen en la piel máculas separadas, serpiginosas, hiper o hipopigmentadas, generalmente sobre el pecho, la espalda, los brazos o el abdomen. Las lesiones son crónicas y se presentan como placas maculares de la piel con coloración alterada que pueden crecer y confluir, pero la descamación, la inflamación y la irritación son mínimas. En realidad, esta afección común es principalmente un problema estético.

Las especies de *Malassezia* son levaduras lipofílicas y la mayoría requiere lípidos en el medio de crecimiento. El diagnóstico se confirma por el examen microscópico directo de las escamas de la piel infectada tratadas con KOH de 10 a 20% o teñidas con calcofluor blanco. Se observan hifas cortas no ramificadas y células esféricas. Las lesiones también emiten fluorescencia cuando se iluminan con la lámpara de Wood. La pitiriasis versicolor se trata con aplicaciones diarias de sulfuro de selenio. Los azoles tópicos o por vía oral también son eficaces. Raras veces *Malassezia* puede causar fungemia oportunista en los pacientes—por lo general en infantes—, a quienes se administra nutrición parenteral total como resultado de la contaminación de la emulsión de lípidos. En la mayoría de los casos la fungemia es transitoria y se puede corregir con el reemplazo del líquido y del catéter intravenoso. Algunas personas desarrollan folliculitis debida a *Malassezia*. A especies de *Malassezia*, consideradas parte de la flora microbiana y que pueden aislarse de la piel normal y de la piel cabelluda, se les ha implicado como causa o factor contribuyente de dermatitis seborreica, o caspa. Esta hipótesis se apoya en la observación de que muchos casos se alivian mediante tratamiento con ketoconazol.

TIÑA NEGRA

La tiña negra (o tiña negra palmar) es una infección superficial crónica y asintomática del estrato córneo causada por el hongo dematiáceo *Hortea* (*Exophiala*) *werneckii*. Este padecimiento es prevalente en regiones costeras de clima caliente y entre mujeres jóvenes. La lesión se presenta como una mancha oscura (de marrón a negro), casi siempre sobre la palma de la mano. El examen microscópico de las escamas de piel procedentes de la periferia de la lesión revela hifas septadas, ramificadas y yemas de células de levadura con paredes celulares melanizadas. La tiña negra responde al tratamiento con soluciones queratolíticas, ácido salicílico o antimicóticos del grupo azol.

PIEDRA

La piedra negra es una infección nodular del cabello causada por *Piedraia hortai*. La piedra blanca, debida a infección por especies de *Trichosporon*, se presenta como nódulos de mayor tamaño, blandos y de color amarillento sobre los cabellos. Pueden contaminarse los pelos axilar, púbico, de

la barba y del cráneo. El tratamiento para ambos tipos consiste en eliminar el vello y aplicar antimicóticos tópicos. La piedra es endémica en países tropicales en desarrollo.

MICOSIS CUTÁNEAS

Los hongos que sólo infectan tejido queratinizado superficial (piel, vello y uñas) causan micosis cutánea. Los más importantes son los dermatofitos, un grupo de casi 40 hongos interrelacionados que pertenecen a los tres géneros: *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*. Los dermatofitos probablemente se restringen a la piel no viable, puesto que en su mayor parte son incapaces de crecer a 37 °C o en presencia de suero. Las dermatofitosis se encuentran entre las infecciones más prevalentes en el mundo. Aunque pueden ser persistentes y problemáticas, no son debilitantes ni ponen en riesgo la vida, pero anualmente se gastan millones de dólares en su tratamiento. Por su carácter superficial, las infecciones dermatofíticas (tiña) se han reconocido desde la antigüedad. En la piel se diagnostican por la presencia de hifas ramificadas, septadas, hialinas o por las cadenas de artroconidios. En el cultivo muchas especies están muy interrelacionadas y con frecuencia son difíciles de identificar. Se les puede asignar especie con base en diferencias sutiles del aspecto de las colonias y de morfología microscópica y también por algunos requerimientos vitamínicos. A pesar de sus semejanzas morfológicas, de requerimientos nutritivos, de antígenos de superficie y de otras características, muchas especies han desarrollado queratinasas, elastasas y otras enzimas que les permiten ser muy específicas del huésped. Se ha descubierto un estado reproductivo sexual en algunas especies de dermatofitos, y todos los dermatofitos con una forma sexual producen ascosporas y pertenecen al género teleomórfico *Arthroderma*.

Los dermatofitos se clasifican como geófilos, zoófilos o antropófilos, según su hábitat usual, sea el suelo, los animales o los humanos. Varios dermatofitos normalmente residentes en el suelo, o que acompañan a una especie particular de animal, aún tienen capacidad para causar infecciones en humanos. En general, conforme una especie evoluciona desde su hábitat en el suelo hasta un animal específico o huésped humano, pierde la capacidad para producir conidios asexuales y de reproducirse sexualmente. Las especies antropófilas, que causan el mayor número de infecciones en los humanos, ocasionan en éstos infecciones relativamente débiles y crónicas, producen pocos conidios en cultivo y a veces son difíciles de erradicar; por el contrario, los dermatofitos geófilos y zoófilos están menos adaptados al huésped humano y producen infección inflamatoria más aguda, la cual tiende a resolverse con mayor rapidez. Los dermatofitos se adquieren por contacto con el suelo contaminado, o con animales o humanos infectados.

Algunas especies antropófilas están geográficamente restringidas, pero otras se encuentran en todo el mundo como *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes*

variedad interdigital. *T. rubrum* y *T. tonsurans*. La especie geófila más común causante de infección en humanos es el *Microsporum gypseum*. Las especies zoófilas cosmopolitas (y su huésped natural) incluyen el *M. canis* (perros y gatos), el *M. gallinae* (aves), el *M. nanum* (cerdos), el *Trichophyton equinum* (caballos) y el *T. verrucosum* (bovinos).

Morfología e identificación

Los dermatófitos se identifican por la apariencia de sus colonias y su morfología microscópica después de dos semanas de crecimiento a 25 °C sobre agar dextrosa Sabouraud. Las especies de *Trichophyton*, que pueden infectar cabello, piel o uñas, desarrollan macroconidios cilíndricos de paredes lisas y microconidios característicos (figura 45-10). Según la variedad, las colonias del *T. mentagrophytes* pueden ser algodonosas o granulares; ambos tipos muestran abundantes microconidios esféricos similares a racimos de uvas sobre ramas terminales. En los aislamientos primarios comúnmente se observan hifas espirales o enrolladas. La colonia típica del *T. rubrum* presenta una superficie blanca semejante al algodón y un pigmento rojo intenso no difusible cuando se observa por el reverso de la colonia. Los microconidios son pequeños y piriformes (en forma de pera). *T. tonsurans* produce una colonia aterciopelada o polvosa en la cara anversa, plana, que se convierte en roja-marrón cuando se ve por el reverso; los microconidios en su mayor parte son alargados.

Las especies de *Microsporum* tienden a producir macroconidios multicelulares peculiares con paredes espinosas (figura 45-11). Ambos tipos de conidios se originan sólo individualmente en este género. *M. canis* forma una colonia con una superficie blanca algodonosa y un color amarillo intenso por el reverso; el macroconidio de pared gruesa con 8 a 15 celdillas frecuentemente presenta extremos curvos o en forma de gancho. El *M. gypseum* produce una colonia polvosa de color canela y abundantes macroconidios de pared delgada con 4 a 6 celdillas. Las especies *Microsporum* sólo infectan cabello y piel.

Epidermophyton floccosum, el único patógeno del género, sólo produce macroconidios de paredes lisas, en forma de masa con 2 a 4 celdillas, y formadas en grupos de 2 o 3 (figura 45-11). Las colonias por lo general son planas y aterciopeladas, con una mancha canela o verde olivo. El *E. floccosum* infecta piel y uñas pero no el cabello.

Además de la micro y macroscopia de la morfología, algunas pruebas nutritivas o de otro tipo, como el crecimiento a 37 °C o la perforación del cabello *in vitro*, son útiles para diferenciar ciertas especies.

Epidemiología e inmunidad

Las infecciones por dermatófitos se inician en la piel después de un traumatismo y por contacto. Hay evidencia de que la susceptibilidad del huésped puede ser incrementada por la humedad, el calor, la química específica de la piel, la composición de la grasa y la transpiración, la edad joven, la exposición intensa y la predisposición genética. La incidencia es más alta en climas cálidos y húmedos, así como en condiciones de hacinamiento. El uso de calzado suministra calor y humedad, condiciones para la infección de los pies. La fuente de infección es el suelo o un animal infectado en el caso de los dermatófitos geófilos y zoófilos, respectivamente. El conidio puede permanecer viable durante tiempo prolongado. Las especies antropófilas se pueden transmitir por contacto directo o a través de fomites como toallas o ropa contaminada, por compartir baños de regadera y ejemplos similares.

La *tricotifina* es una preparación cruda de antígeno que se puede emplear para detectar la hipersensibilidad inmediata o tardía a los antígenos dermatofíticos. Muchos pacientes quienes desarrollan infecciones dermatofíticas crónicas no inflamatorias muestran insuficiencia de la respuesta inmunitaria mediada por células al antígeno dermatofítico. Estos pacientes con frecuencia son atópicos y presentan hipersensibilidad de tipo inmediato con grandes concentraciones elevadas de la IgE. En el huésped normal,

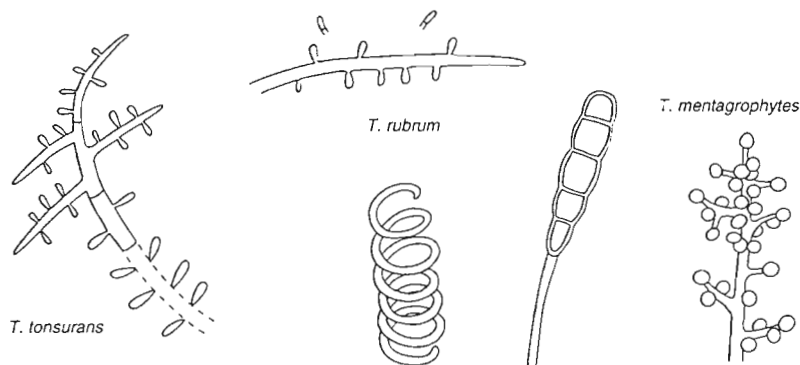


Figura 45-10. Especies de *Trichophyton*. Macroconidio, hifa espiral y microconidio típico.

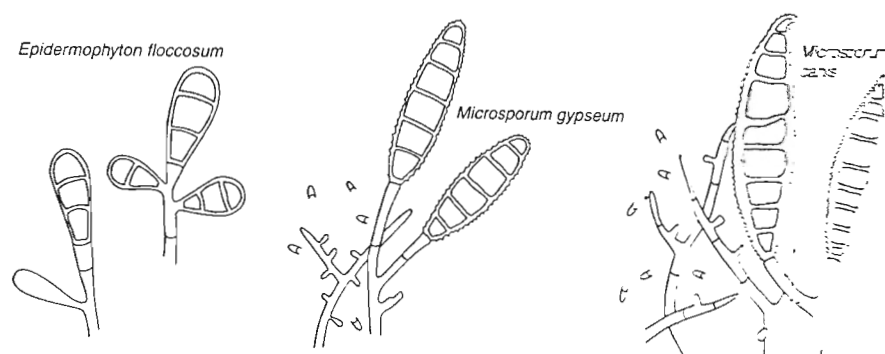


Figura 45-11. Microconidio y macroconidio característicos.

la inmunidad a los dermatófitos varía en cuanto a duración y grado según el huésped, el sitio y la especie del hongo causante de la infección.

Datos clínicos

Las infecciones por dermatófitos se denominan erróneamente *tiña* o *Tinea* debido a las lesiones circulares promi-

nentes. Las formas clínicas dependen de sus hábitos. Una sola especie es capaz de causar más de un tipo de infección clínica. Por el contrario, una sola forma clínica, como la tiña del cuerpo, puede ser causada por más de una especie de dermatófito. Los agentes más comunes relacionados con formas clínicas particulares se presentan en el cuadro 45-2. Muy raras veces los pacientes inmunodeficientes pueden desarrollar infecciones sistémicas por un dermatófito.

Cuadro 45-2. Algunas características clínicas de la infección por dermatófitos

Enfermedad de la piel	Localización de las lesiones	Aspecto clínico	Hongos causantes más frecuentes
<i>Tinea corporis</i> (circinada)	Piel lisa lampiña	Placas circulares con bordes vesiculados, eritematosos, crecientes y descamación central. Pruriginosa.	<i>Trichophyton rubrum</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i>
<i>Tinea pedis</i> ¹ (pie de atleta)	Espacios interdigitales de los pies en personas que usan zapatos	Aguda: prurito, vesículas eritematosas. Crónica: prurito, descamación, fisuras	<i>Trichophyton rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>Epidermophyton floccosum</i>
<i>Tinea cruris</i> (comezón de jinete)	Ingle	Lesión eritematosa descamativa en áreas intertriginosas. Pruriginosa	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>E. floccosum</i>
<i>Tinea capitis</i>	Pelo de la piel cabelluda. Endotrix: hongos dentro del cabello. Ectotrix: hongos en la superficie del cabello	Placas de alopecia areata con cabellos de tallos cortos o cabellos rotos en los folículos pilosos. Quebradura rara. Pelos fluorescentes por infección con <i>Microsporum</i>	<i>T. mentagrophytes</i> , <i>M. canis</i>
<i>Tinea barbae</i>	Vello de la barba	Lesión eritematosa, edematosa	<i>T. mentagrophytes</i>
<i>Tinea unguium</i> (onicomicosis)	Uña	Uñas distalmente engrosadas o quebradizas; alteraciones del color, deslustradas. Habitualmente acompañada de <i>tinea pedis</i>	<i>T. rubrum</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>E. floccosum</i>
Dermatofitide (reacción id)	Generalmente en caras laterales y superficies flexoras de los dedos. Palmas. Cualquier sitio sobre el cuerpo.	Lesión pruriginosa vesiculosa o bullosa. Más comúnmente acompañada de <i>tinea pedis</i>	No se encuentran hongos en la lesión. Pueden llegar a infectarse de manera secundaria con bacterias

¹ A veces se acompaña de lesiones en manos y uñas (onicomicosis).

A. *Tinea pedis* (tiña del pie; pie de atleta)

La *tinea pedis* es la más prevalente de todas las dermatofitosis. Se presenta como una infección crónica en los pliegues interdigitales del pie. Otras variedades son los tipos vesicular, ulceroso y en mocasín, con hiperqueratosis de la planta del pie. Inicialmente hay prurito entre los dedos de los pies y presencia de pequeñas vesículas que se rompen y dejan salir líquido. La piel de los pliegues interdigitales del pie se macera y descama; en esos sitios aparecen grietas susceptibles al desarrollo de infección bacteriana secundaria. Cuando la infección micótica se hace crónica, la descamación y el agrietamiento de la piel son las principales manifestaciones, acompañadas por dolor y prurito.

B. *Tinea unguium* (tiña de las uñas, onicomicosis)

La infección de las uñas puede ser subsecuente a una *tinea pedis* prolongada. Con la invasión por hifas las uñas se vuelven amarillas, quebradizas, engrosadas y friables. Pueden estar afectadas una o más uñas de los pies.

C. *Tinea corporis* (tiña del cuerpo), *tinea cruris* (tiña de la ingle) y *tinea manus* (tiña de las manos)

La dermatofitosis de la piel lampiña comúnmente da lugar a lesiones tínicas anulares, con un centro escamoso sin vello, rodeado por un borde rojizo creciente que puede ser seco o vesiculoso. El dermatofito sólo crece en el tejido muerto queratinizado, pero los metabolitos, las enzimas y los antígenos del hongo se difunden a través de las capas viables de la epidermis para causar eritema, formación de vesículas y prurito. Las infecciones con dermatofitos geófilos y zoófilos producen más irritación y más inflamación que las antropófilas. Conforme las hifas envejecen forman con frecuencia cadenas de artroconidios. Las lesiones se expanden en dirección centrifuga y es en la periferia donde más probablemente se obtenga material para diagnóstico, por el crecimiento activo de las hifas. La penetración en el estrato córneo recién formado de las superficies gruesas plantar y palmar explica la infección persistente en esos sitios.

Cuando la infección se presenta en la región inguinal se le denomina *tinea cruris* (o comezón del jinete). La mayor parte de estas infecciones afecta a los varones, y se presentan como lesiones secas y pruriginosas que con frecuencia se inician sobre el escroto y se propagan a la ingle. La *Tinea manus* se refiere a las lesiones de las manos o de los dedos. Las lesiones escamosas y secas pueden afectar una o ambas manos, así como uno, dos o más dedos.

D. *Tinea capitis* (tiña de la cabeza) y *tinea barbae* (tiña de la barba)

Tinea capitis es la dermatofitosis o tiña de la piel de la barba y los cabellos. La infección se inicia con invasión de hifas sobre la piel cabelluda con propagación subsecuente hacia la pared queratinizada del folículo piloso. La infección del cabello tiene lugar justo arriba de la raíz. Las hifas crecen hacia abajo sobre la porción no viable del cabello a la misma tasa con la que éste crece hacia arriba. La infec-

ción produce placas circulares de color gris oscuro de alopecia, descamación y prurito. Conforme el cabello crece por fuera del folículo, las hifas de las especies *Microsporum* producen una cadena de esporas que forma una vaina alrededor de él (ectotrix). Estas esporas imparten una fluorescencia verdosa o plázeada cuando se examinan los cabellos bajo luz de Wood (365 nm). Por el contrario, el *T. tonsurans*, principal causa de la tiña de la cabeza de puntos negros, produce esporas dentro del cabello (endotrix). Estos cabellos no fluorescen: están debilitados y típicamente se rompen con facilidad en la abertura folicular. En los niños, antes de la pubertad, la tiña de la cabeza epidémica por lo general es autolimitada.

Las especies zoófilas pueden inducir una reacción combinada grave de hipersensibilidad e inflamación denominada querión. Otra manifestación de la *tinea capitis* es el favus, una infección inflamatoria aguda del folículo piloso causada por el *T. schoenleinii*, que conduce a la formación de escútila (costras) alrededor del folículo. En los cabellos fávicos las hifas no forman esporas, pero pueden encontrarse dentro del cabello. La tiña de la barba afecta la región del mentón. En especial cuando es causada por un dermatofito zoófilo, se puede inducir reacción inflamatoria intensa que recuerda mucho la infección piógena.

E. Reacción tricofítica

En el curso de la dermatofitosis, la persona puede mostrar hipersensibilidad a los constituyentes o productos del hongo y desarrollar manifestaciones alérgicas, denominadas dermatofitides (generalmente vesículas) en cualquier parte del cuerpo, con mayor frecuencia en las manos. La prueba de tricofitina en la piel es fuertemente positiva en estas personas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras consisten en raspado de piel y uñas, además de cabellos arrancados en las áreas afectadas. Los cabellos infectados por *Microsporum* presentan fluorescencia bajo la luz de Wood en un cuarto oscuro.

B. Examen microscópico

Las muestras se colocan sobre un portaobjetos en una gota de hidróxido de potasio de 10 a 20%, con o sin blanco calcofluor, que es un colorante inespecífico de la pared de las células de los hongos cuando se observa con microscopio de fluorescencia. Se coloca un cubreobjetos y en seguida se examina la muestra, lo cual se repite después de 20 min. Cualquiera que sea la especie infectante, se observan hifas o cadenas ramificadas de artroconidios (artrosporas) en piel o uñas (figura 45-12). En los cabellos, la mayor parte de las especies de *Microsporum* forman vainas densas de esporas alrededor del cabello (ectotrix); el *T. tonsurans* y el *T. violaceum* se distinguen porque producen artroconidios dentro del cabello (endotrix).

C. Cultivo

Para identificar las especies de dermatofitos se requiere cultivo. Las muestras se inoculan sobre agar inhibidor de mohos.

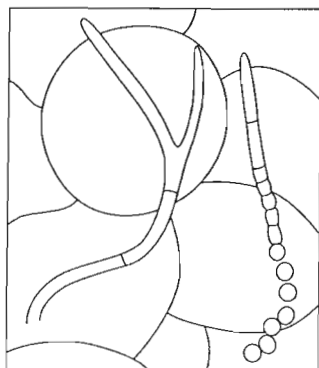


Figura 45-12. Dermatófito en hidróxido de potasio procedente de la piel o de raspado de uña. Hifas ramificadas. Formación de arthroconidios.

o agar de Sabouraud con cicloheximida y cloramfenicol para suprimir el crecimiento de mohos y bacterias, se incuban de 1 a 3 semanas a temperatura ambiente, y se examinan además cultivos en portaobjetos si es necesario. Las especies se identifican con base en la morfología de las colonias (tasa de crecimiento, textura de la superficie y cualquier pigmentación), la morfología microscópica (macroconidios, micronidios) y, en algunos casos, los requerimientos nutricionales.

Tratamiento

La terapéutica consiste en la eliminación completa de las estructuras epiteliales infectadas y muertas y la aplicación de una sustancia tópica antimicótica química o antibiótica. Para prevenir la reinfección, el área debe mantenerse seca y evitar las fuentes de infección como mascotas infectadas o compartir las instalaciones de baño.

A. *Tinea capitis*

Las infecciones de la piel cabelluda se tratan con griseofulvina durante 4 a 6 semanas. Los lavados frecuentes del cabello con champú y el miconazol crema u otro antimicótico tópico pueden ser eficaces si se emplean durante semanas. Alternativamente, el ketoconazol, el itraconazol y la terbinafina son todos muy eficaces.

B. *Tinea corporis*, *Tinea pedis* e infecciones relacionadas

Los fármacos más eficaces son el itraconazol y la terbinafina. Sin embargo, se pueden emplear algunas preparaciones tópicas como el nitrato de miconazol, el tolnaftato y el clotrimazol. Cuando se aplican al menos durante 2 a 4 semanas la tasa de curación por lo general es de 70 a 100%. El tratamiento debe continuarse durante 1 a 2 semanas después de la desaparición de las lesiones. En los casos problemáticos se puede administrar un breve ciclo de griseofulvina oral.

C. *Tinea unguium*

Las infecciones de las uñas son las más difíciles de tratar, con frecuencia requieren la administración de itraconazol o terbinafina por vía oral durante meses y también la extirpación quirúrgica de la uña. Son comunes las recaídas.

MICOSIS SUBCUTÁNEAS

Los hongos que producen micosis subcutáneas normalmente residen en el suelo o en la vegetación. Penetran a la piel o al tejido subcutáneo por inoculación traumática con material contaminado. En general, las lesiones se convierten en granulomatosas y se expanden lentamente desde el área de implantación. La extensión por medio de los linfáticos que drenan la lesión es lenta, excepto en la esporotricosis. Estas micosis en general se confinan a los tejidos subcutáneos, pero en casos raros se hacen sistémicas y producen enfermedad que pone en peligro la vida.

SPOROTHRIX SCHENCKII

El *Sporothrix schenckii* es un hongo dimórfico que vive en la vegetación. Se relaciona con una variedad de plantas: pasto, árboles, musgo esfagníneo, rosales y otras plantas hortícolas. A temperatura ambiente crece como un moho y produce hifas septadas ramificadas y conidios, y en los tejidos o *in vitro* de 35 a 37 °C como pequeñas levaduras en gemación. Después de introducirse en la piel por traumatismo, el *S. schenckii* causa esporotricosis, una infección granulomatosa crónica. El episodio inicial típicamente va seguido de diseminación secundaria con afección de los linfáticos drenantes y de los ganglios linfáticos.

Morfología e identificación

El *S. schenckii* crece bien en medios de agar rutinarios y a temperatura ambiente las colonias jóvenes son negruzcas y brillantes, al envejecer se arrugan y se cubren de "pelusa". La pigmentación de las cepas varía desde negro y gris hasta blanquecino. Los microorganismos producen hifas ramificadas, septadas, y conidios pequeños característicos (3 a 5 µm) delicadamente agrupados en los extremos de los conidióforos adelgazados (figura 45-13). Los hongos aislados también pueden formar conidios de mayor tamaño directamente de la hifa. El *S. schenckii* es térmicamente dimorfo y a 35 °C sobre un medio enriquecido crece como células pequeñas de levadura en gemación de forma variable, pero en general fusiforme (alrededor de 1 a 3 x 3 a 10 µm) según se muestra en la figura 45-13.

Estructura antigénica

La suspensión salina de cultivo muerto por calor o sus fracciones de carbohidrato (esporotricina) inducen sensibilidad

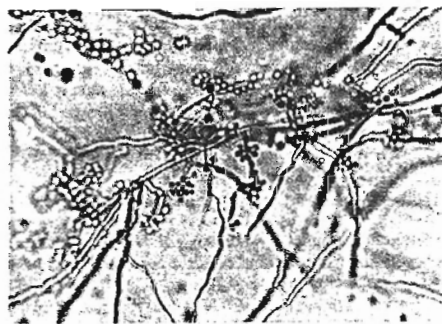
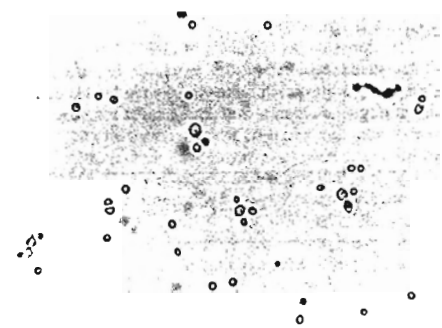


Figura 45-13. *Sporothrix schenckii*. A: blastoconidio observado en tejido o cultivo a 37 °C. B: formación de conidio en cultivo a 30 °C.

retardada positiva en pruebas cutáneas efectuadas a humanos o animales infectados. Se han desarrollado varias pruebas serológicas, la mayoría de los pacientes y algunas personas normales presentan anticuerpos específicos o de reactividad cruzada.

Patogenia y datos clínicos

Los conidios o fragmentos hifales de *S. schenckii* se introducen a la piel por traumatismo. Los pacientes con frecuencia relatan un antecedente de traumatismo relacionado con actividades a la intemperie y plantas. La lesión inicial por lo general se encuentra sobre las extremidades, pero puede presentarse en cualquier parte (los niños casi siempre manifiestan lesiones en la cara). Alrededor de 75% de los casos son linfocutáneos; por ejemplo, la lesión inicial se desarrolla como un nódulo granulomatoso que puede progresar hasta formar una lesión necrosada o ulcerosa; en el intervalo, los linfáticos drenantes se engruesan y semejan una cuerda. Múltiples nódulos subcutáneos y abscesos aparecen a lo largo de los linfáticos.

La esporotricosis fija es un nódulo no linfagítico, solitario, limitado y menos progresivo. La lesión fija es más

común en las áreas endémicas como México, donde existe un alto grado de exposición e inmunidad en la población, puesto que la inmunidad limita la propagación local de la infección.

La enfermedad sistémica que acompaña a estas lesiones por lo general es mínima, pero puede presentarse diseminación, sobre todo en pacientes debilitados. Raras veces se produce esporotricosis pulmonar primaria como resultado de la inhalación de conidios. Esta manifestación de la enfermedad simula tuberculosis cavitaria crónica y tiende a presentarse en los pacientes con insuficiencia de la inmunidad mediada por células.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras incluyen material de biopsia o exudado de las lesiones ulcerosas.

B. Examen microscópico

Aunque las muestras se pueden examinar directamente con tinciones de KOH o calcofluor: blanco, rara vez se encuentran las formas de levadura. Aunque escasa en los tejidos, la sensibilidad de los cortes histopatológicos puede incrementarse con las tinciones rutinarias para paredes de hongos, como la metenamina argéntica de Gomori que tiñe las paredes celulares en negro, o la tinción con ácido peryódico de Schiff que imparte un color rojo a la pared celular. Alternativamente, se pueden identificar por tinción con anticuerpos fluorescentes. Las levaduras poseen 3 a 5 µm de diámetro y son esféricas o alargadas.

En los tejidos con frecuencia se observa otra estructura denominada cuerpo asteroide, sobre todo en las regiones endémicas como México, Sudáfrica y Japón. En los tejidos teñidos con hematoxilina y eosina el cuerpo asteroide consiste en una célula de levadura basófila en el centro rodeada por prolongaciones radiales de material eosinófilo, que son depósitos de complejos antígeno-anticuerpo y complemento.

C. Cultivo

El método más confiable de diagnóstico es el cultivo. Las muestras se siembran en estrías sobre agar de Sabouraud o agar inhibidor de moho que contengan antibacterianos y se incuban de 25 a 30 °C. La identificación de *S. schenckii* se confirma por crecimiento a 35 °C y conversión a la forma de levadura.

D. Serología

En los pacientes infectados se observa aglutinación a títulos altos de las suspensiones de células de levaduras o de partículas de látex recubiertas con antígeno, pero esto no siempre es diagnóstico.

Tratamiento

En algunos casos la infección es autolimitada; la administración oral de solución saturada de yoduro de potasio en leche es muy eficaz, pero difícil de tolerar para muchos pacientes. El tratamiento de elección es el itraconazol por vía oral u otros de los fármacos azoles. Para la enfermedad sistémica se administra anfotericina B.

Epi

E. S.
cion
laci
sas, n
prade
se ob
o a d
ci, es
se co
culto
medi
el em
le ma
perot

CRO

La cr
nació
cualq
dente
tracoe
Prual
ha aq
currir
lento
por su
epide

Morf

Los h
estruc
cas L
negro
cuenc
identu
recen
(2 a 1
forme
versa
puede
célula
den ge

A. PI

Los co
frasco
ros, es
gener

B. C

(Clac
Las es
ducen
trop
sigue

Epidemiologia y control

E. S. schenckii se encuentra en todo el mundo en estrecha relación con las plantas. Por ejemplo, algunos casos se han relacionado a contacto con musgo esfagníneo, espinas de rosas, madera en descomposición, paja de pino, pasto de la pradera y otra vegetación. Alrededor de 75% de los casos se observa en varones, ya sea debido a una mayor exposición o a diferente susceptibilidad asociada al sexo. La incidencia es mayor entre trabajadores agrícolas y la esporotricosis se considera un riesgo ocupacional para campesinos, horticultores y trabajadores similares. La prevención incluye las medidas para reducir al mínimo la inoculación accidental y el empleo de fungicidas, cuando sea apropiado, para tratar la madera. Los animales también son susceptibles a la esporotricosis.

CROMIOBLASTOMICOSIS

La cromoblastomicosis (cromomucosis) es una infección micótica subcutánea causada por inoculación traumática de cualquiera de los cinco agentes fúngicos reconocidos residentes en el suelo y la vegetación. Todos son hongos dematiáceos, que poseen paredes celulares melanizadas: *Phialophora verrucosa*, *Fonsecaea pedrosoi*, *Rhinocladiella aquaspersa*, *Fonsecaea compacta* y *Cladophialophora carrionii*. La infección es crónica y se caracteriza por el lento desarrollo de lesiones granulomatosas progresivas que, por su parte, inducen hiperplasia pronunciada del tejido epidérmico.

Morfología e identificación

Los hongos dematiáceos son similares en su pigmentación, estructura antigénica, morfología y propiedades fisiológicas. Las colonias son compactas, de color marrón intenso o negro y desarrollan una superficie aterciopelada con frecuencia arrugada. Los agentes de la cromoblastomicosis se identifican por su modo de formar conidios. En tejidos parecen iguales y producen células esféricas de color marrón (4 a 12 µm de diámetro) denominadas corpúsculos muriformes o escleróticos que se dividen por septación transversa. La septación en diferentes planos con separación tardía puede dar lugar a grupos de 4 a 8 células (figura 45-14). Las células dentro de la costra superficial o los exudados pueden germinar en hifas septadas ramificadas.

A. *Phialophora verrucosa*

Los conidios se producen a partir de filiales en forma de frasco con collarines en forma de vaso. Los conidios maduros, esféricos u ovales, son expulsados de la fialide y en general se acumulan a su alrededor.

B. *Cladophialophora* (*Cladosporium*) *carrionii*

Las especies de *Cladophialophora* y de *Cladosporium* producen cadenas ramificadas de conidios por gemación distal (acropétalas). El conidio terminal de una cadena da lugar al siguiente conidio por un proceso de gemación. Las espe-

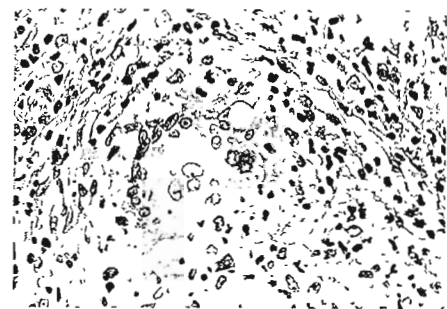


Figura 45-14. Cromomucosis. Células micóticas pigmentadas observadas en células gigantes.

cies se identifican con base en diferencias de la longitud de las cadenas y la forma y el tamaño de los conidios. El *C. carrionii* produce conidióforos alargados con cadenas ramificadas de conidios ovales.

C. *Rhinocladiella aquaspersa*

Estas especies producen conidios laterales o terminales de células conidiógenas en alargamiento, un proceso simpodial. Los conidios son elípticos o en forma de masa.

D. *Fonsecaea pedrosoi*

Fonsecaea es un género polimorfo. Los hongos aislados pueden exhibir 1) filiales, 2) cadenas de blastoconidios similares a las especies de *Cladosporium*, o 3) conidiación simpodial tipo *Rhinocladiella*. La mayor parte de las cepas de *F. pedrosoi* forman cadenas cortas ramificadas de blastoconidios y también conidio simpodial.

E. *Fonsecaea compacta*

Los blastoconidios producidos por la *F. compacta* son casi esféricos, con una base ancha que conecta los conidios. Estas estructuras son más pequeñas y más compactas que las de *F. pedrosoi*.

Patogenia y datos clínicos

Los hongos se introducen a la piel por lesión traumática, casi siempre en zonas expuestas de la pierna o el pie. Durante meses o años la lesión primaria se hace verrugosa y se extiende a lo largo de los linfáticos drenantes en forma parecida a una verruga. Finalmente, nódulos similares a coliflor con abscesos costrosos cubren la región. Ulceraciones pequeñas o "puntos negros" de material hemopurulento aparecen sobre la superficie verrugosa. En raras ocasiones produce elefantiasis a causa de infección secundaria, obstrucción y fibrosis de los conductos linfáticos. La diseminación a otras partes del cuerpo es muy rara, aunque pueden presentarse lesiones satélite debido a la propagación linfática local o por autoinoculación. Desde el punto de vista histológico, las lesiones son granulomatosas y pueden observarse cuerpos escleróticos oscuros en los leucocitos o en las células gigantes.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras consisten en raspado o biopsia de las lesiones.

B. Examen microscópico

Los raspados se colocan en KOH al 10% y se examinan en el microscopio en busca de células esféricas oscuras. La detección de cuerpos escleróticos es diagnóstica de cromoblastomycosis, cualquiera que sea el agente etiológico. Los cortes de tejido revelan granulomas e hiperplasia extensa del tejido dérmico.

C. Cultivo

Deben cultivarse muestras sobre agar inhibidor de mohos o agar de Sabouraud con antibióticos. Las especies dematiáceas se identifican por sus estructuras conidiales características, según se describe antes. Existen muchos mohos saprofitos dematiáceos similares, pero difieren de las especies patógenas en que no pueden crecer a 37 °C ni tienen la capacidad para digerir la gelatina.

Tratamiento

El tratamiento indicado es la escisión quirúrgica con márgenes amplios de las lesiones pequeñas. La quimioterapia con flucitossina o itraconazol puede ser eficaz para las lesiones de mayor tamaño. También es beneficiosa la aplicación de calor local. Son comunes las recaídas.

Epidemiología

La cromoblastomycosis se observa principalmente en los trópicos. Los hongos son de naturaleza saprofita, probablemente se encuentran en la vegetación y en el suelo. La enfermedad aparece en especial en las piernas de los trabajadores agrícolas descalzos luego que el hongo se introduce por traumatismo. La cromoblastomycosis no es transmisible, la infección probablemente puede prevenirse mediante uso de zapatos y la protección de las piernas.

FEOHIFOMICOSIS

Feohifomicosis es un término aplicado a las infecciones caracterizadas por la presencia de hifas septadas con pigmentación oscura en los tejidos. Se han descrito infecciones cutáneas y sistémicas. Las variedades clínicas van desde quistes solitarios encapsulados en el tejido subcutáneo hasta sinusitis y absceso cerebral. Más de 100 especies de mohos dematiáceos se han relacionado con varios tipos de infección feohifomicosis. Todos son mohos exógenos que existen normalmente en la naturaleza. Algunas especies causantes más comunes de feohifomicosis subcutánea son la *Exophiala jeikei*, la *Phialophora richardsiae*, la *Bipolaris spicifera* y la *Wangiella dermatitidis*. Estas especies y otras (p. ej., *Exserohilum rostratum*, especies de *Alternaria* y de *Curvularia*) también pueden estar implicadas en la feohifomicosis sistémica. La incidencia de feohifomicosis y la gama de patógenos ha ido en aumento en

años recientes, tanto en los pacientes inmunocompetentes como en los inmunodeficientes.

En los tejidos, las hifas son grandes (5 a 10 µm de diámetro) y con frecuencia deformadas, a veces se acompañan de células de levadura, pero estas estructuras pueden diferenciarse de otros hongos por la melanina en sus paredes celulares. Las muestras se cultivan en medios rutinarios para hongos para identificar el agente etiológico. En general, el itraconazol o la flucitossina son los fármacos preferidos para la feohifomicosis subcutánea. Los abscesos cerebrales generalmente son mortales, pero cuando se identifican pueden manejarse con anfotericina B y cirugía. La principal causa de feohifomicosis cerebral es la *Cladophiala bantiana*.

MICETOMA

El micetoma es una infección subcutánea crónica producida por la inoculación traumática de alguna de las varias especies saprofitas de hongos o de bacterias actinomicetales normalmente presentes en el suelo. Las características clínicas que definen el micetoma son la inflamación local y las fístulas drenantes —con frecuencia interconectadas—, las cuales contienen gránulos que son microcolonias del agente integradas al material del tejido. Un actinomicetoma es un micetoma causado por un actinomiceto: un **eumicetoma** (maduromycosis, pie de Madura) es un micetoma causado por hongos. La historia natural y las características clínicas de ambos tipos de micetoma son similares, pero los actinomicetomas pueden ser más invasores y propagarse desde el tejido subcutáneo al músculo subyacente. Es claro que el tratamiento será diferente. El micetoma se encuentra en todo el mundo, pero con mayor frecuencia en personas depauperadas que no usan zapatos. Los micetomas sólo se encuentran de manera esporádica fuera de los trópicos y son particularmente prevalentes en India, África y Latinoamérica. Los actinomicetomas se estudian en el capítulo 13.

Morfología e identificación

Los agentes fúngicos del micetoma incluyen, entre otros, la *Pseudallescheria boydii*, la *Madurella mycetomatis*, la *Madurella grisea*, la *Exophiala jeikei* y la *Acremonium falciforme*. En EUA la especie prevalente es la *P. boydii*, homotética y con capacidad para producir ascósporas en cultivo. La *E. jeikei* y las especies de *Madurella* son mohos dematiáceos. Estos mohos se identifican principalmente por su modo de conidiación. La *P. boydii* también puede causar sudoleesquerasias, una infección sistémica en pacientes inmunodeficientes.

En los tejidos los gránulos del micetoma pueden alcanzar hasta 2 mm de tamaño. El color del gránulo a veces suministra información acerca del agente. Por ejemplo, los gránulos del micetoma causados por *P. boydii* y *A. falciforme* son blancos, los de *M. grisea* y *E. jeikei* son negros, y los de *M. mycetomatis* son gránulos de color oscuro o negro. Estos gránulos son duros y contienen hifas septadas entrelazadas (3 a 5 µm de ancho). En la penicili-

del gránulo las hifas típicamente se encuentran deformadas y alargadas.

Patogenia y datos clínicos

El micetoma se desarrolla después de inoculación traumática de tierra contaminada con alguno de los agentes. Los tejidos subcutáneos de los pies, las extremidades inferiores, las manos y las regiones descubiertas son los afectados con mayor frecuencia. Cualquiera que sea el agente, la patología se caracteriza por supuración y formación de abscesos, granulomas, y la formación de fístulas drenantes que contienen los gránulos. Este proceso puede propagarse al músculo y hueso contiguos. Las lesiones no tratadas persisten durante años; se extienden en profundidad y hacia la periferia para producir deformación y pérdida de la función.

Muy raras veces la *P. boydii* puede diseminarse en un huésped inmunodeficiente o causar infección en un cuerpo extraño (p. ej., marcapasos cardíaco).

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Se pueden disecar los gránulos y separarlos del pus o utilizar el material de biopsia para examen y cultivo en el medio apropiado. El color, la textura y el tamaño del gránulo, así como la presencia de hifas hialinas o pigmentadas (o de bacterias) es útil para definir el agente causante. Los micetomas drenantes con frecuencia están superinfectados con *estafilococos* y *estreptococos*.

Tratamiento

El manejo del eumicetoma es difícil, implica desbridamiento o escisión quirúrgica y quimioterapia. *P. boydii* se trata con nistatina o miconazol tópicos. Pueden recomendarse itraconazol, ketoconazol e incluso anfotericina B para las infecciones por *M. madurella* y flucitosina para la *E. jeanselmei*. En estas lesiones deben administrarse los quimioterápicos durante periodos prolongados para lograr penetración adecuada.

Epidemiología y control

Los microorganismos causantes del micetoma se encuentran en el suelo y en la vegetación. Por tanto, los trabajadores descalzos del campo están comúnmente expuestos. Lavar de manera apropiada las heridas y usar zapatos son medidas de control razonables.

MICOSIS ENDÉMICAS (Micosis sistémicas dimórficas)

Cada una de las cuatro micosis (dimórficas) sistémicas principales: coccidioidomicosis, histoplasmosis, blastomicosis

y paracoccidioidomicosis, se restringe a regiones geográficas endémicas específicas. Existen en la naturaleza hongos que causan coccidioidomicosis e histoplasmosis en suelos secos o suelos mezclados con guano, respectivamente. Se presume que los agentes de la blastomicosis y de la paracoccidioidomicosis residen en la naturaleza, pero no se ha definido con claridad su hábitat. Cada una de estas micosis es causada por un hongo térmicamente dimorfo, y casi todas las infecciones se inician en los pulmones luego de la inhalación de los respectivos conidios. Sólo unas pocas infecciones producen enfermedad que puede implicar diseminación de los pulmones a otros órganos. Estas micosis no son transmisibles entre humanos y otros animales, pero existen raras excepciones. En el cuadro 45-3 se contrastan algunas de las características fundamentales de estas micosis sistémicas o profundas y se presenta un resumen. Aunque la mayor parte de las infecciones sintomáticas causadas por estos hongos se presentan en personas inmunocompetentes, la incidencia entre los pacientes con SIDA y otros con inmunidad celular deficiente aumenta continuamente.

COCCIDIOIDES IMMITIS Y COCCIDIOIDES POSADASII

El *Coccidioides immitis* y el *C. posadasii* son mohos del suelo fenotípicamente indistinguibles, que causan coccidioidomicosis. La infección es endémica en regiones semiáridas bien circunscritas del suroeste de EUA, Centroamérica y Sudamérica. Por lo general, la infección es autolimitada; la diseminación es rara pero siempre grave y puede ser mortal.

Morfología e identificación

Mediante análisis que se basan en el DNA se reconoció en fechas recientes a *C. posadasii* como una especie distinta, así como una causa frecuente de coccidioidomicosis. Sin embargo, puesto que no puede ser reconocida en el laboratorio y debido a que las manifestaciones clínicas son las mismas con *C. immitis* o *C. posadasii*, en este capítulo sólo se utiliza el nombre de la primera especie más común.

C. immitis produce colonias algodonosas de color blanco o canela en la mayor parte de los medios de laboratorio. Las hifas forman cadenas de artroconidios (artrosporas), con frecuencia desarrolladas en células alternas de una hifa. Estas cadenas se fragmentan en artroconidios individuales, fácilmente arrastrados por el aire y muy resistentes a las condiciones ambientales adversas. Los pequeños artroconidios ($3 \times 6 \mu\text{m}$) permanecen viables durante años y son muy infectantes. Después de ser inhalados, los artroconidios adoptan forma esférica y crecen para formar esférulas que contienen endosporas (figura 45-15). Las esférulas también pueden producirse en el laboratorio mediante cultivo en un medio complejo.

En los cortes histológicos de tejido, esputo u otras muestras, las esférulas son diagnósticas del *C. immitis*. Al madurar las esférulas poseen una pared gruesa birrefringente y a veces alcanzan hasta $80 \mu\text{m}$ de diámetro. Dentro de las esférulas se concentran endosporas (2 a $5 \mu\text{m}$ de diá-

Cuadro 45-3. Resumen de micosis sistémicas¹

	Coccidioidomycosis	Histoplasmosis	Blastomycosis	Paracoccidioidomycosis
Etiología	<i>Coccidioides immitis</i> , <i>C. posadasii</i>	<i>Histoplasma capsulatum</i>	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
Ecología	Suelo	Hábitat de murciélagos y aviar (guano); suelo alcalino	Desconocido (¿represas de los ríos?)	Desconocido (¿suelo?)
Distribución geográfica	Regiones semiáridas del suroeste de EUA, México, Centroamé- rica y Sudamérica	Global: endémica en los valles de los ríos Ohio, Missouri y Mississippi; África central (variedad <i>dubosii</i>)	Endémica a lo largo de los valles de los ríos Mississippi, Ohio, San Lorenzo, así como en el sureste de EUA	Centroamérica y Sudamérica
Conidio (<35 °C)	Hifas septadas hiali- nas y artroconidio 3 x 6 µm	Hifas septadas hialinas, macroconidios tubercula- dos, 8 a 16 µm, y peque- ños microconidios ovales, 3 a 5 µm	Hifas hialinas septadas y conidiforos cortos que poseen conidios simples globosos o piriformes, 2 a 10 µm	Hifas hialinas septadas y a veces conidios globosos y clamidosporas.
Forma tisular	Estérulas, 10 a 80 µm o más grandes, conteniendo endos- poras, 2 a 4 µm	Levaduras ovales 2 x 4 µm, intracelular en macrófagos	Levaduras de pared gruesa con base ancha, comúnmente yemas simples, 8 a 15 µm	Múltiples yemas de levaduras, 15 a 30 µm o más grandes

¹ Las cuatro micosis sistémicas son causadas por hongos dimorfos y se contraen al inhalar conidios. Con excepción de la blastomycosis, hay evidencia de una gran tasa de infección en las áreas endémicas. 90% o más de las infecciones se presentan en personas inmunocompetentes, y la mayor parte es asintomática y autolimitada. Hasta en 90% de los casos la enfermedad sintomática se observa en varones. Coccidioidomycosis e histoplasmosis son comunes en los pacientes con SIDA en las regiones endémicas.

metro). Con el tiempo las paredes se rompen y liberan las endosporas, que pueden desarrollarse en nuevas estérulas.

Estructura antigénica

La coccidioidina es una preparación cruda de antígeno extraído del cultivo filtrado de líquido micelial de *C. immitis*. La esferulina se produce a partir de un filtrado del caldo de cultivo de las estérulas. En dosis estandarizadas ambos antígenos inducen reacción cutánea retardada, positiva en las personas infectadas. También se emplean en varias pruebas para medir los anticuerpos séricos al *C. immitis*.

Patogenia y datos clínicos

La inhalación de artroconidios produce infección primaria asintomática en 60% de las personas. La única evidencia de infección es el desarrollo de precipitinas en el suero y la conversión a una prueba cutánea positiva en las primeras 2 a 4 semanas. Las precipitinas declinan, pero la prueba cutánea con frecuencia permanece positiva durante el resto de la vida. El otro 40% de las personas desarrolla una enfermedad autolimitada parecida a influenza con fiebre, malestar, tos, artralgia y cefalea. Este estado se denomina **fiebre del valle**, **fiebre del valle de San Joaquín** o **reumatismo del**

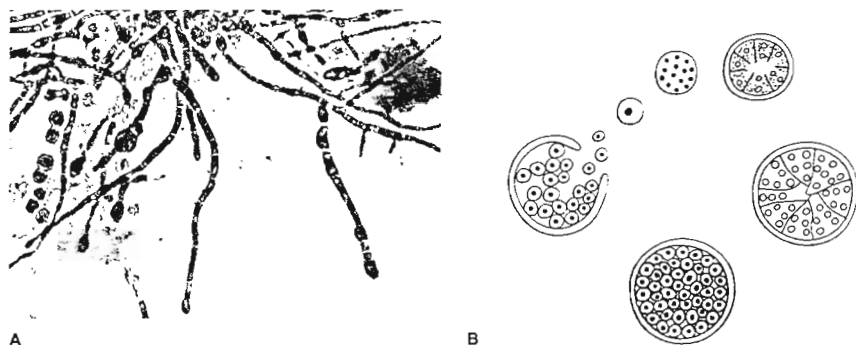


Figura 45-15. *Coccidioides immitis*. A: En el suelo. Formación de artroconidios (artrosporas) y germinación. B: En tejido. Formación de estérulas con endosporas.

desierto. Después de 1 a 2 semanas, alrededor de 15% de estos pacientes desarrolla reacciones de hipersensibilidad que se manifiesta como exantema cutáneo, eritema nudoso o eritema multiforme. En el examen radiográfico, los pacientes por lo general muestran adenopatía hiliar e infiltrados pulmonares, neumonía, derrame pleural o nódulos. En casi 5% se observan secuelas pulmonares, casi siempre en forma de un nódulo solitario o una cavidad de pared delgada.

Menos de 1% de las personas infectadas con *C. immitis* desarrolla coccidioidomicosis secundaria o diseminada, la cual con frecuencia es debilitante y pone en riesgo la vida. Los factores de riesgo para coccidioidomicosis sistémica incluyen la herencia, el sexo, la edad y la deficiencia de la inmunidad celular. La enfermedad se presenta con mayor frecuencia en ciertos grupos raciales. En orden de creciente de riesgo están filipinos, afroestadounidenses, nativos estadounidenses, hispanos y asiáticos. Existe un componente genético claro en la respuesta inmunitaria al *C. immitis*. Los varones son más susceptibles que las mujeres, con excepción de las embarazadas, lo que puede relacionarse con diferencias en la respuesta inmunitaria o con un efecto directo de las hormonas sexuales sobre el hongo. Por ejemplo, el *C. immitis* posee proteínas capaces de unirse a los estrógenos, y las concentraciones grandes de estradiol y de progesterona estimulan su crecimiento. Los jóvenes y los ancianos están en mayor riesgo. Existe un requerimiento de respuesta inmunitaria mediada por células para una resistencia adecuada, los pacientes con SIDA y con otros estados de inmunodepresión se encuentran en riesgo de coccidioidomicosis diseminada.

Algunas personas desarrollan enfermedad pulmonar crónica progresiva con nódulos y cavidades que crecen y se multiplican. Por lo general, la diseminación tiene lugar en el primer año después de la infección primaria. Las esferulas y las endosporas se diseminan por extensión directa o por vía hematogénica. Algunos sitios fuera del pulmón pueden estar afectados, pero los órganos más frecuentes son la piel, los huesos, las articulaciones y las meninges. Existen manifestaciones clínicas características relacionadas con las infecciones por *C. immitis* en cada una de éstas y otras partes del cuerpo.

Cuando la respuesta inmunitaria es inadecuada para contener los focos pulmonares, hay diseminación. En la mayoría de las personas una prueba cutánea positiva significa una fuerte respuesta inmunitaria mediada por células y protección contra la reinfección. Sin embargo, si estas personas sufren compromiso inmunitario por fármacos citotóxicos o enfermedad (p. ej., SIDA) puede presentarse la diseminación muchos años después de la infección primaria (reactivación de la enfermedad). En los pacientes con SIDA, la coccidioidomicosis casi siempre se presenta como neumonitis reticulonodular difusa rápidamente mortal. Dada la superposición radiológica entre esta enfermedad y la neumonía por *Pneumocystis*, y puesto que la terapéutica es diferente para estas dos entidades, es importante mantenerse alerta acerca de la posibilidad de neumonía coccidioidal en los pacientes con SIDA. El hemocultivo casi siempre es positivo para el *C. immitis*.

En el examen histológico, las lesiones coccidioidales contienen granulomas típicos con células gigantes y supuración interpretada. El diagnóstico puede establecerse por el

hallazgo de esferulas y endosporas. El curso clínico con frecuencia se caracteriza por remisiones y recaídas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras para cultivo incluyen esputo, exudado de lesiones cutáneas, líquido cefalorraquídeo, sangre, orina y biopsia de tejidos.

B. Examen microscópico

Los materiales deben examinarse en fresco (después de centrifugación, si es necesario) en busca de las esferulas típicas. Las tinciones con KOH o calcofluor blanco facilitan encontrar las esferulas y las endosporas. Estas estructuras casi siempre se encuentran en las preparaciones histológicas.

C. Cultivo

Los cultivos en agar inhibidor de mohos, agar Sabouraud o de agar sangre inclinado pueden incubarse a temperatura ambiente o 37 °C. El medio puede prepararse con o sin antimicrobianos y cicloheximida para inhibir bacterias contaminantes o mohos saprofitos, respectivamente. Puesto que los atroconidios son muy infectantes, los cultivos sospechosos sólo deben examinarse en una campana de flujo laminar. La identificación debe confirmarse por la detección de un antígeno específico al *C. immitis*, inoculación en animales, o empleo de una sonda de DNA específica.

D. Serología

Unas 2 a 4 semanas después de la infección pueden detectarse anticuerpos IgM a coccidioidina mediante una prueba de aglutinación en látex. Los anticuerpos IgG específicos se detectan con inmunodifusión (ID) o prueba de fijación del complemento (FC). Cuando el episodio primario se resuelve, estos anticuerpos disminuyen en pocos meses. Por el contrario, en la coccidioidomicosis diseminada el título de anticuerpos FC continúa en aumento. Los títulos mayores de 1:32 indican diseminación y su descenso durante el tratamiento sugiere mejoría. Sin embargo, los títulos de FC menores de 1:32 no excluyen la coccidioidomicosis. De hecho, sólo la mitad de los pacientes con meningitis coccidioidal presenta aumento de los anticuerpos séricos, pero la concentración de los anticuerpos en el líquido cefalorraquídeo comúnmente es grande. En los pacientes con SIDA que presentan coccidioidomicosis, por lo general estas pruebas serológicas son negativas.

E. Prueba cutánea

La prueba cutánea con coccidioidina presenta induración máxima (mayores de 5 mm de diámetro) 24 a 48 h después de la inyección cutánea de 0.1 mL de dilución estandarizada. Si los pacientes con enfermedad diseminada se convierten en anérgicos la prueba cutánea es negativa, esto implica un pronóstico muy malo. Pueden presentarse reacciones cruzadas con los antígenos de otros hongos. La esferulina es más sensible que la coccidioidina para detectar a las personas reactivas. La reacción a la prueba cutánea tiende a disminuir de tamaño e intensidad años después de la infec-

ción primaria en las personas residentes en áreas endémicas, pero las pruebas cutáneas ejercen un efecto de "refuerzo". Después de la recuperación de la infección primaria, generalmente existe inmunidad a la reinfección.

Tratamiento

En la mayoría de las personas la infección primaria sintomática es autolimitada y sólo requiere tratamiento de apoyo, aunque el itraconazol puede reducir los síntomas. Sin embargo, los pacientes con enfermedad grave deben tratarse con anfotericina B administrada por vía intravenosa. Este régimen puede seguirse durante varios meses con la administración de itraconazol por vía oral. Los casos de meningitis coccidioidal se han tratado con fluconazol por vía oral, que ha mostrado buena penetración al sistema nervioso central; sin embargo, se requiere terapéutica a largo plazo y se han presentado recaídas. Los azoles no son más eficaces que la anfotericina B, pero son más fáciles de administrar y se acompañan de menor número de efectos adversos y menos graves. Las nuevas emulsiones lipídicas de anfotericina B prometen suministrar dosis grandes con menor toxicidad. A veces es necesaria la resección quirúrgica de las cavidades pulmonares y con frecuencia es curativa.

Epidemiología y control

Las áreas endémicas de *C. immitis* son regiones semiáridas, que recuerdan la *Lower Sonoran Life Zone*. Incluyen los estados del suroeste de EUA, en particular los valles de San Joaquín y Sacramento, en California, las zonas alrededor de Tucson y Phoenix, en Arizona, el valle del río Grande (Bravo) y las regiones similares en Centroamérica y Sudamérica. En estas áreas puede aislarse el *C. immitis* del suelo y de roedores nativos, y el nivel de reactividad a las pruebas cutáneas en la población indica que muchos humanos se han infectado. La tasa de infección es alta durante los meses secos del verano y el otoño, cuando abunda más el polvo. Después de las tormentas de polvo puede seguir un aumento en la incidencia de la infección y la enfermedad. Entre 1991 a 1993, durante una epidemia de coccidioidomicosis en el valle de San Joaquín, California, la tasa de coccidioidomicosis aumentó más de 10 veces. Se ha sugerido que la mayor precipitación pluvial en los meses de primavera de esos años actuó como estímulo ambiental.

La enfermedad no se transmite de una persona a otra y no hay evidencia de que los roedores infectados contribuyan a propagarla. Se puede lograr cierto control con medidas como reducir el polvo, pavimentar las carreteras y campos aéreos, plantar pasto o cultivos agrícolas y utilizar aerosoles oleosos.

HISTOPLASMA CAPSULATUM

El *Histoplasma capsulatum* es un saprofito dimorfo del suelo que causa la histoplasmosis, la infección micótica pulmonar más prevalente en humanos y animales. En la naturale-

za, el *H. capsulatum* crece como un moho en suelos y hábitat aviarios enriquecidos con sustratos alcalinos, nitrógeno y guano. El *H. capsulatum* y la histoplasmosis, iniciada por inhalación de los conidios, se encuentran en todo el mundo. Sin embargo, la incidencia varía de manera considerable y la mayor parte de los casos se observan en EUA. El *H. capsulatum* recibió su nombre por el aspecto de las células de levadura en los cortes histopatológicos; no obstante, no es un protozoario ni posee cápsula.

Morfología e identificación

A temperatura menor de 37 °C, los aislados primarios del *H. capsulatum* con frecuencia desarrollan colonias de mohos de color marrón, pero su aspecto varía. Muchos aislados crecen con lentitud y la muestra requiere incubación durante 4 a 12 semanas antes del desarrollo de las colonias. Las hifas hialinas septadas producen microconidios (2 a 5 µm), así como macroconidios grandes y esféricos de pared gruesa con prolongaciones periféricas del material de la pared celular (8 a 16 µm) (figura 45-16). En tejidos *in vitro*, sobre medio enriquecido a 37 °C, las hifas y los conidios se convierten en levaduras ovales pequeñas (2 x 4 µm). En los tejidos, las levaduras se observan típicamente dentro de los macrófagos, puesto que el *H. capsulatum* es un parásito intracelular facultativo (figura 45-17). En el laboratorio, con parejas de cepas apropiadas, se puede demostrar un ciclo sexual que genera un teleomorfo productor de ascosporas, el *Ajellomyces capsulatus*.

Estructura antigénica

La histoplasmina es un antígeno filtrado del caldo de cultivo micelial. Después de la infección inicial, asintomática en más de 95% de las personas, se desarrolla positividad a la histoplasmina de tipo retardado en la prueba cutánea. Se pueden medir en suero anticuerpos a los antígenos miceliales de las levaduras (véase cuadro 45-4).

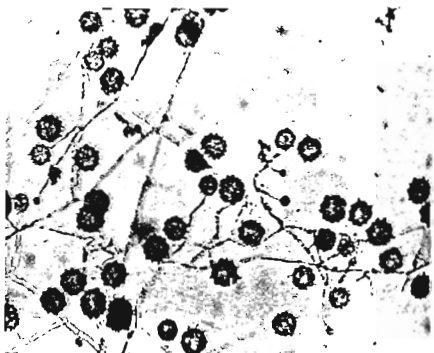


Figura 45-16. *Histoplasma capsulatum*. Macroconidio y microconidio en cultivo a 30 °C.

Patogenia y datos clínicos

Después de inhalado, el conidio desarrolla levaduras que son fagocitadas por los macrófagos alveolares donde pueden replicarse. Dentro de los macrófagos, las levaduras pueden diseminarse al tejido reticuloendotelial como el hígado, el bazo, la médula ósea y los ganglios linfáticos. La reacción inflamatoria inicial se hace granulomatosa. En más de 95% de los casos, la respuesta resultante inmunitaria mediada por células conduce a la secreción de citocinas que activan los macrófagos para inhibir el crecimiento intracelular de las levaduras. Algunas personas inmunocompetentes, quienes inhalan un inóculo grande, desarrollan histoplasmosis pulmonar aguda, un síndrome autolimitado parecido a la gripe con fiebre, escalofríos, mialgias, cefalea y tos no productiva. En el examen radiográfico la mayoría de los pacientes presenta linfadenopatía hilar e infiltrados o nódulos pulmonares. Estos síntomas se resuelven espontáneamente sin tratamiento y los nódulos granulomatosos en los pulmones y en otros sitios cicatrizan con calcificación.

La histoplasmosis pulmonar crónica aparece con mayor frecuencia en los varones y en general es un proceso de reactivación, brote de una lesión latente que pudo ser adquirida años antes. Esta reacción en general se desencadena por algún daño pulmonar, como enfisema.

Una pequeña minoría de las personas infectadas desarrolla histoplasmosis diseminada grave, sobre todo los lactantes, los ancianos y los inmunodeficientes, incluso los pacientes con SIDA. El sistema reticuloendotelial es especialmente susceptible de ser afectado con linfadenopatía, hepatosplenomegalia, fiebre alta, anemia y una tasa alta de mortalidad sin tratamiento antimicótico. Pueden aparecer úlceras mucocutáneas en nariz, boca, lengua e intestino. En estas personas, el estudio histológico revela áreas circunscritas de necrosis con granulomas en muchos órganos. Las

levaduras pueden presentarse dentro de los macrófagos en la sangre, el hígado, el bazo y la médula ósea.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras para cultivo incluyen esputo, orina, raspado de las lesiones superficiales, aspirado de la médula ósea y células sanguíneas del sobrenadante. Los frotis sanguíneos, de médula ósea y de muestras de biopsia pueden examinarse con el microscopio. En la histoplasmosis diseminada los cultivos de médula ósea casi siempre son positivos.

B. Examen microscópico

Pequeñas células ovoides pueden observarse dentro de macrófagos en cortes histológicos teñidos con colorantes para hongos (p. ej., metenamina argéntica de Gomori, ácido peryódico Schiff o calcofluor blanco), o en los frotis de médula ósea o sangre teñidos con Giemsa.

C. Cultivo

Las muestras se cultivan en medio enriquecido como agar sangre glucosa-cisteína a 37 °C y sobre agar inhibidor de hongos o de Sabouraud de 25 a 30 °C. El cultivo debe incubarse un mínimo de cuatro semanas. Hay que advertir al laboratorio de la sospecha de histoplasmosis, debido a que se pueden emplear métodos especiales de hemocultivo, como lisiscentrifugación o medio de caldo para hongos, con objeto de incrementar la recuperación del *H. capsulatum*.

D. Serología

Las pruebas FC para anticuerpos contra histoplasmina o levaduras se hacen positivas de 2 a 5 semanas después de la infección. Los títulos FC aumentan durante la enfermedad progresiva y declinan a concentraciones muy escasas cuando la enfermedad se inactiva. Con la enfermedad evolutiva los títulos FC son $\geq 1:32$. Pueden presentarse reacciones cruzadas, por tanto, también se ensayan de manera rutinaria anticuerpos a otros antígenos fúngicos. En la prueba ID se detectan precipitinas a los dos antígenos específicos del *H. capsulatum*: la presencia de anticuerpos al antígeno H casi siempre significa histoplasmosis activa, en tanto que los anticuerpos al antígeno M pueden originarse en pruebas cutáneas repetidas o en una exposición en el pasado. Unas de las pruebas más sensibles son el radioanálisis o el inmunanálisis enzimático para antígenos circulantes del *H. capsulatum*. Casi todos los pacientes con histoplasmosis diseminada son positivos para el antígeno en suero o en orina: la concentración del antígeno desciende después de un tratamiento satisfactorio y aumenta durante las recaídas. A pesar de las reacciones cruzadas con otras micosis, esta prueba para el antígeno es más sensible que las pruebas con anticuerpos convencionales en los pacientes con SIDA afectados de histoplasmosis.

E. Prueba cutánea

Las pruebas cutáneas con histoplasmina se convierten en positivas poco después de la infección y permanecen positivas durante años. Pueden hacerse negativas en la histoplasmosis progresiva diseminada. Las pruebas cutáneas repetidas

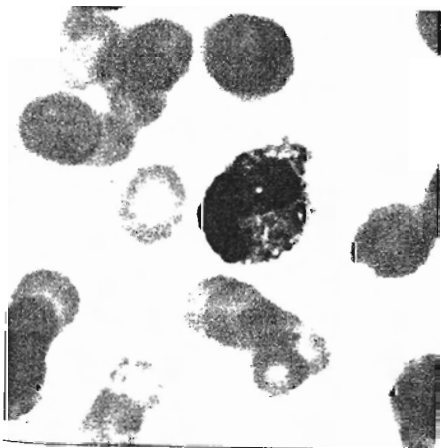


Figura 45-17. *Histoplasma capsulatum*. Macrófago que contiene células de levaduras.

Cuadro 45-4. Resumen de las pruebas serológicas para anticuerpos a los hongos patógenos dimorfos sistémicos

Micosis	Prueba ¹	Antígeno ²	Sensibilidad y valor		Comentarios
			Diagnóstico	Pronóstico ³	
Coccidioidomicosis	TP	C	Infección primaria temprana: 90% de los casos positivos	Ninguno	
	FC	C	Título $\geq 1:32$ = enfermedad secundaria	El título refleja gravedad (excepto en la enfermedad meníngea)	Raras veces reacción cruzada con histoplasmina
	ID	C	> 90% de casos positivos, es decir, banda F o HL (o ambas)		Más específica que la prueba FC
Histoplasmosis	FC	H	$\leq 84\%$ de los casos positivos (título $\geq 1:8$)	Incremento cuádruple del título	Reacciones cruzadas en pacientes con blastomicosis, criptococosis, aspergilosis; el título puede incrementarse por la prueba cutánea con histoplasmina
	FC	Y	$\geq 94\%$ de los casos positivos (título $\geq 1:8$)	Incremento cuádruple del título	Menos reactividad cruzada que con histoplasmina
	ID	H	$\geq 85\%$ de los casos positivos, es decir bandas m, o, m, y h	Pérdida de banda h	La prueba cutánea con histoplasmina puede incrementar la banda m, más específica que la prueba FC
Blastomicosis	FC	By	< 50% de los casos positivos; solo la reacción a antígeno homólogo es diagnóstica	Incremento cuádruple del título	Alta reactividad cruzada
	ID	Bcf	$\leq 80\%$ de los casos positivos, en la banda A	Pérdida de la banda A	Más específica y sensible que la prueba FC
	EIA	A	$\leq 90\%$ de los casos positivos (título $\geq 1:16$)	Cambio en el título	92% de especificidad
Paracoccidioidomicosis	FC	P	80 a 95% de los casos positivos (título $\geq 1:8$)	Incremento cuádruple del título	Algunas reacciones cruzadas con títulos bajos con sueros de aspergilosis y candidiasis
	ID	P	98% de los casos positivos (bandas 1, 2, 3)	Pérdida de bandas	Banda 3 y banda m (a histoplasmina) son idénticas

¹Pruebas: FC, fijación del complemento; ID, inmunodifusión; TP, precipitina en tubo de ensayo; EIA, inmunoenálisis enzimático.

²Antígenos: C, coccidioidina; H, histoplasmina; Y, levadura de *H. capsulatum*; By, levaduras de *B. dermatitidis*; Bcf, filtrado de cultivo de levaduras de *B. dermatitidis*; A, antígeno A de *B. dermatitidis*; P, filtrado de cultivo de levadura de *P. brasiliensis*. En las pruebas de inmunodifusión, se detectan anticuerpos a los siguientes antígenos específicos de especie: *C. immitis*, F, HL; *H. capsulatum*, m y h; *B. dermatitidis*, A; y *P. brasiliensis*, 1, 2 y 3.

³Incremento cuádruple del título de fijación del complemento (p. ej., un descenso de 1:32 a 1:8) se considera significativo, como lo es la pérdida del anticuerpo específico de inmunodifusión (o sea, se hace negativo).

estimulan los anticuerpos séricos en las personas sensibles, lo cual interfiere con la interpretación diagnóstica de las pruebas serológicas.

Inmunidad

Después de la infección inicial la mayoría de las personas parece desarrollar cierto grado de inmunidad. La inmunosupresión puede producir reactivación y enfermedad diseminada. Los pacientes con SIDA pueden presentar histoplasmosis diseminada por reactivación o por infección nueva.

Tratamiento

La histoplasmosis pulmonar aguda se trata con terapéutica de apoyo y reposo. El itraconazol es el tratamiento para la infección de leve a moderada. En la enfermedad diseminada el tratamiento sistémico con anfotericina B casi siempre es curativo, aunque a veces los pacientes requieren tratamiento prolongado y vigilancia para detectar una recaída. Los pacientes con SIDA por lo general recaen a pesar del tratamiento que sería curativo en otros pacientes. Por tanto, estos pacientes requieren terapéutica de sostén con itraconazol.

Epide

La incidencia de las áreas de infección y en particular en Mississippi han producido inóculos el hábito de beber de fuentes o guano tan, pero de cultivo bien se p extensión

En los estudiantes de la edad de los niños en la una persona con aereo

En la variante de la enfermedad is enferma nes y pro con abund mas gran

BLAS

Blastomy que crece separadas se convier guza 45- infección vas inicia disemina y huesos. american casos tien prevalen cosis en endémica

Morfolo

Cuando A temperatu marón co co. ovoic minales d producirs jido o cul efística n generalm dura prog ancha y ce

Epidemiología y control

La incidencia de la histoplasmosis es mayor en E.U.A. donde las áreas endémicas incluyen los estados centrales y del este, y en particular el valle del río Ohio y partes del valle del río Mississippi. Numerosos brotes de histoplasmosis aguda se han producido por exposición de muchas personas a un inóculo grande de conidios. Esto tiene lugar cuando se altera el hábitat natural del *H. capsulatum*, suelo mezclado con heces de aves (p. ej., perchas de gallineros, jaulas de pollos) o guano de murciélagos (cavernas). Las aves no se infectan, pero su excremento suministra condiciones excelentes de cultivo para el crecimiento del hongo. Los conidios también se propagan por el aire y el polvo. El brote urbano más extenso de histoplasmosis tuvo lugar en Indianápolis.

En algunas áreas muy endémicas, 80 a 90% de los residentes presentarán prueba cutánea positiva al principio de la edad adulta. Muchos presentan calcificaciones miliares en los pulmones. La histoplasmosis no se transmite de una persona a otra, el *H. capsulatum* puede ser destruido con aerosol de formaldehído sobre el suelo infectado.

En África, además del patógeno habitual existe una variante estable, el *H. capsulatum* variedad *duboisii*, causante de la histoplasmosis africana. Esta variedad difiere de la enfermedad habitual porque afecta menos a los pulmones y presenta mayor número de lesiones en piel y hueso, con abundantes células gigantes que contienen levaduras más grandes y más esféricas.

BLASTOMYCES DERMATITIDIS

Blastomyces dermatitidis es un hongo térmicamente dimorfo que crece como mohó en cultivo; produce hifas hialinas septadas y ramificadas, y conidios. A 37 °C o en el huésped se convierte en una sola levadura en gemación grande (figura 45-18). El *B. dermatitidis* causa la **blastomicosis**, una infección crónica con lesiones granulomatosas y supurativas iniciada en los pulmones; desde allí puede presentarse diseminación a cualquier órgano pero con preferencia a piel y huesos. La enfermedad se denomina blastomicosis norteamericana debido a que es endémica y la mayor parte de los casos tiene lugar en E.U.A. y Canadá. A pesar de esta gran prevalencia en Norteamérica, se ha comprobado blastomicosis en África, Sudamérica y Asia. En el este de E.U.A. es endémica para humanos y perros.

Morfología e identificación

Cuando *B. dermatitidis* crece sobre agar de Sabouraud, a temperatura ambiente, aparecen colonias de color blanco o marrón con hifas ramificadas que poseen conidios esféricos, ovoides o piriformes (3 a 5 µm de diámetro) sobre terminales delgadas o conidióforos laterales. También pueden producirse clamidosporas más grandes (7 a 18 µm). En tejido o cultivo a 37 °C, *B. dermatitidis* crece como levadura esférica multinucleada de pared gruesa (8 a 15 µm) que generalmente produce yemas simples. Las yemas y la levadura progenitora se encuentran unidas mediante una base ancha y con frecuencia la yema crece hasta el mismo tama-

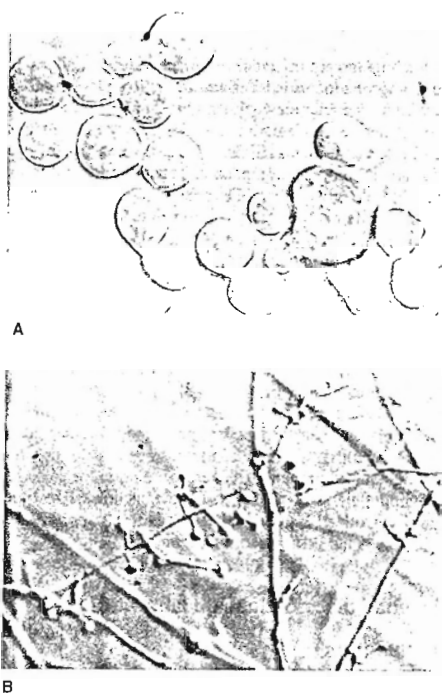


Figura 45-18. *Blastomyces dermatitidis*. A: en tejido o cultivo a 37 °C. B: en cultivo a 30 °C en agar Sabouraud.

ño que la levadura progenitora antes de desprenderse. Las colonias de levaduras son rugosas, cerasas y blandas.

Estructura antigénica

Los extractos de filtrado de cultivo del *B. dermatitidis* contienen **blastomicina**, probablemente una mezcla de antígenos. Como reactivo de una prueba cutánea, la blastomicina carece de especificidad y sensibilidad. Los pacientes casi siempre son negativos o pierden su reactividad, y se presentan reacciones cruzadas falsas positivas en las personas expuestas a otros hongos. Por consiguiente, no se han realizado pruebas cutáneas en la población para determinar el grado de la exposición. El valor diagnóstico de la blastomicina como antígeno en la prueba de FC también es discutible, puesto que las reacciones cruzadas son comunes; sin embargo, muchos pacientes con blastomicosis muy extendida poseen títulos grandes de FC. En la prueba ID mediante antisuero de referencia adsorbido se pueden detectar anticuerpos a un antígeno específico del *B. dermatitidis* designado como antígeno A. Es más confiable un inmunoanálisis enzimático para el antígeno A. La unidad repetida inmunodominante encargada de generar una respuesta inmunitaria protectora mediada por células probablemente es parte de una proteína de superficie secretada (WI-1).

Patogenia y datos clínicos

En los humanos la infección se inicia en los pulmones. Se han comprobado casos leves autolimitados, pero se desconoce su frecuencia puesto que no hay una prueba serológica o cutánea adecuada para evaluar las infecciones primarias subclínicas o resueltas. El cuadro clínico más común es el infiltrado pulmonar, acompañado de varios síntomas indistinguibles de otras infecciones agudas en vías respiratorias inferiores (fiebre, malestar generalmente, sudación nocturna, tos y mialgias). Los pacientes también pueden presentar neumonía crónica. El examen histológico revela una reacción piogranulomatosa característica distinta con neutrófilos y granulomas no caseosos. Cuando hay diseminación son más comunes las lesiones cutáneas sobre las superficies descubiertas. Pueden evolucionar hasta granulomas verrucosos ulcerados con un borde en crecimiento y cicatrización central. El borde se llena de microabscesos y muestra un margen nítido en decreciente. Pueden presentarse lesiones en los huesos, los genitales (próstata, epidídimo y testículos) y el sistema nervioso central; otros sitios son afectados con menor frecuencia. Aunque los pacientes inmunodeficientes, incluso los pacientes con SIDA, pueden desarrollar blastomicosis, no es tan común en estos pacientes como otras micosis sistémicas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras pueden ser esputo, pus, exudados, orina y biopsia de lesiones.

B. Examen microscópico

Las preparaciones en fresco pueden mostrar yemas ampliamente unidas sobre células de paredes gruesas. Esto también puede observarse en los cortes histológicos.

C. Cultivo

Las colonias por lo general se desarrollan en dos semanas sobre agar sangre enriquecido o de Sabouraud a 3 °C. La identificación se confirma por conversión a forma de levadura después de cultivo sobre medio enriquecido, a 37 °C, por extracción y detección de antígeno A específico del *B. dermatitidis*, o mediante sonda de DNA específica.

D. Serología

Como se indica en el cuadro 45-4, los anticuerpos se pueden medir mediante las pruebas FC e ID. Con EIA los aumentos de los títulos de anticuerpos al antígeno A se relacionan con infección pulmonar progresiva o diseminada. En general, las pruebas serológicas no son tan útiles para el diagnóstico de la blastomicosis como lo son en otras micosis endémicas.

Tratamiento

Los casos graves de blastomicosis se tratan con anfotericina B. En los pacientes con lesiones confinadas es muy eficaz un ciclo de seis meses de itraconazol.

Epidemiología

La blastomicosis es una infección relativamente común en perros (y, raras veces, otros animales) en las áreas endémicas. La blastomicosis no puede ser transmitida por animales o humanos. A diferencia de *C. immitis* y *H. capsulatum*, *B. dermatitidis* sólo raras veces (y no de manera reproducible) puede aislarse del ambiente, de modo que se desconoce su hábitat natural. Sin embargo, la incidencia de varios brotes pequeños ha relacionado *B. dermatitidis* con represas en ríos rurales.

PARACOCIDIOIDES BRASILIENSIS

Paracoccidioides brasiliensis es el agente fúngico dimorfo de la paracoccidioidomicosis (blastomicosis sudamericana), confinada a las regiones endémicas de Centroamérica y Sudamérica.

Morfología e identificación

En su forma de mohe, *P. brasiliensis* crece muy lentamente en cultivo y produce clamidosporas y conidios. Las características no son distintivas. A 36 °C sobre medio enriquecido forma grandes yemas múltiples de levaduras (más de 30 µm). Las levaduras son más grandes y poseen paredes más delgadas que las del *B. dermatitidis*. Están unidas por conexiones estrechas (figura 45-19).

Patogenia y datos clínicos

P. brasiliensis entra al cuerpo por inhalación y las lesiones iniciales tienen lugar en pulmón. Después de un periodo de latencia, que puede durar decenios, los granulomas pulmonares se activan y producen enfermedad pulmonar progresiva crónica o diseminada. La mayoría de los pacientes son de 30 a 60 años de edad, más de 90% son de sexo masculino. Algunos (<10%), típicamente menores de 30 años de edad, desarrollan infección progresiva aguda o subaguda con un periodo de incubación más breve. En el caso común de la paracoccidioidomicosis crónica, las levaduras se propagan del pulmón a otros órganos, en particular a la piel y el tejido mucocutáneo, los ganglios linfáticos, el bazo, el hígado, las suprarrenales y a otros sitios. Muchos pacientes presentan úlceras dolorosas en la mucosa bucal. La histología generalmente muestra granulomas con caseificación o microabscesos centrales. Las levaduras se observan con frecuencia en las células gigantes o directamente en el exudado de lesiones mucocutáneas.

Se han efectuado pruebas cutáneas con un extracto de antígeno, la paracoccidioidina, capaz de presentar reacciones cruzadas con la coccidioidina o la histoplasmina.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

En esputo, exudados, biopsias u otros materiales de las lesiones con frecuencia aparecen levaduras en el examen mi-

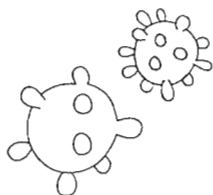


Figura 45-19. *Paracoccidioides brasiliensis*. En tejido o cultivo a 37 °C. Múltiples yemas grandes.

croscópico directo con KOH o calcofluor blanco. Los cultivos sobre Sabouraud o agar extracto de levadura se incuban a temperatura ambiente y se confirman por conversión a la forma levadura mediante crecimiento *in vitro* a 36 °C. Para el diagnóstico es más útil la prueba serológica. Los anticuerpos a paracoccidioidina pueden medirse con las pruebas FC o ID (cuadro 45-4). Las personas sanas en áreas endémicas no poseen anticuerpos contra el *P. brasiliensis*. En los pacientes, los títulos tienden a correlacionarse con la gravedad de la enfermedad.

Tratamiento

El itraconazol parece más eficaz contra la paracoccidioidomycosis, pero el ketoconazol y el trimetoprim-sulfametoxazol también son eficaces. La enfermedad grave puede tratarse con anfotericina B.

Epidemiología

La paracoccidioidomycosis se presenta principalmente en las áreas rurales de América Latina, sobre todo en granjeros. Las manifestaciones de la enfermedad son mucho más frecuentes en varones que en mujeres, pero la infección y la reactividad a las pruebas cutáneas ocurre por igual en ambos sexos. Puesto que el *P. brasiliensis* sólo se aísla raras veces en la naturaleza, no se ha definido su hábitat natural. Igual que otras micosis endémicas, la paracoccidioidomycosis no es transmisible.

MICOSIS OPORTUNISTAS

Los pacientes con defensas comprometidas son susceptibles a los hongos ubicuos a los cuales comúnmente están expuestas personas sanas sin sufrir enfermedad. En muchos casos el tipo de hongos y la historia natural de la infección micótica son determinados por el estado de predisposición subyacente del huésped. Como miembros de la flora microbiana normal, la *Candida* y las levaduras relacionadas

son oportunistas endógenos. Otras micosis oportunistas son causadas por hongos exógenos presentes en el suelo, agua y aire de todo el mundo. Estudiaremos los patógenos más comunes, pero la incidencia y la lista de especies de hongos causantes de infecciones micóticas graves en los pacientes comprometidos sigue en crecimiento.

En pacientes con SIDA, la susceptibilidad y la incidencia de micosis oportunistas se correlacionan inversamente con la cuenta de linfocitos CD4.

CANDIDA Y LEVADURAS INTERRELACIONADAS

Varias especies del género *Candida* pueden producir candidiasis. Son miembros de la flora normal de la piel, las mucosas y del aparato gastrointestinal. Las especies de *Candida* colonizan las superficies mucosas de todos los humanos durante o poco después del nacimiento, y el riesgo de infección endógena siempre está presente. La candidiasis es la micosis sistémica más común, y los agentes más comunes son *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* y *C. dubliniensis*. El uso extendido de fluconazol ha precipitado el surgimiento de especies más resistentes a los azoles, por ejemplo, *C. krusei* y *C. lusitanae*.

Morfología e identificación

En cultivo o tejidos las especies de *Candida* crecen como levaduras ovales en gemación (3 a 6 µm de tamaño). También forman pseudohifas cuando las yemas continúan su crecimiento, pero sin desprenderse, para generar cadenas de células alargadas, pinzadas o constreñidas en los tabiques entre las células (figura 45-20). La *C. albicans* es dimórfica; además de las levaduras y las pseudohifas, también puede producir hifas verdaderas. Sobre medio de agar, o en las primeras 24 h a 37 °C o temperatura ambiente, las especies de *Candida* producen colonias blandas de color cremoso con olor a levadura. Las pseudohifas se manifiestan como crecimiento bajo la superficie del agar. Dos pruebas morfológicas simples diferencian la *C. albicans*, el patógeno más común, de otras especies de *Candida*: después de incubación en suero durante casi 90 min a 37 °C, las células de *C. albicans* empiezan a formar verdaderas hifas o tubos germinales (figura 45-20) y en un medio nutricional insuficiente *C. albicans* produce clamidosporas grandes y esféricas. Se pueden emplear las pruebas de fermentación de carbohidratos y de asimilación para confirmar la identidad y asignar especie a los aislados de *Candida* más comunes, como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei* y *C. lusitanae*. *C. glabrata* es única entre estos patógenos porque sólo produce hongos de levadura y no formas pseudohifales.

Estructura antigénica

El empleo de antisuero adsorbido ha definido dos serotipos de *C. albicans*: el A (que incluye a la *C. tropicalis*) y el B.

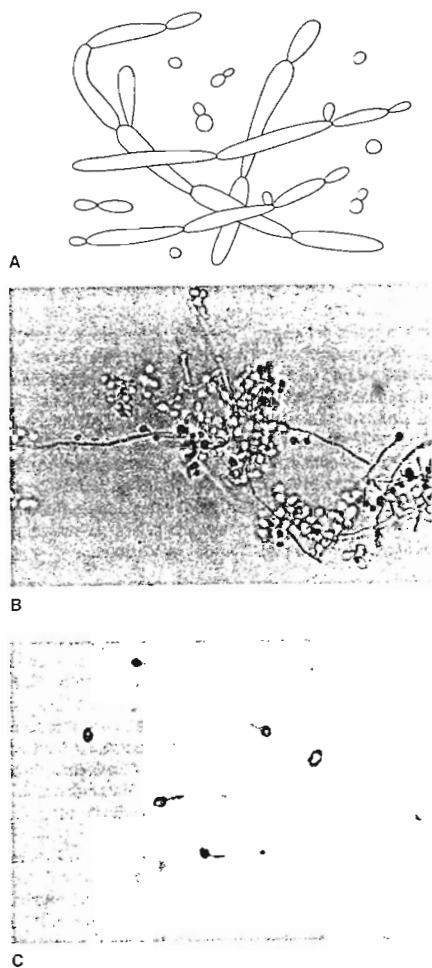


Figura 45-20. *Candida albicans*. A: células de levaduras (blastoconidios) y pseudohifas en exudado. B: blastoconidios, pseudohifas y clamidoconidios (clamidosporas) en cultivo a 30 °C. C: las levaduras forman tubos germinales cuando se colocan en suero durante 3 h a 37 °C.

Se han caracterizado muchos otros antígenos, incluso proteasas secretadas, una enolasa inmunodominante y proteínas del choque de calor.

Patogenia y patología

La candidiasis superficial (cutánea o mucosa) se establece a consecuencia de un incremento en la población local de

Candida y del daño a la piel o el epitelio, que permite la invasión local por la levadura y las pseudohifas. La candidiasis sistémica se presenta cuando la *Candida* penetra al torrente sanguíneo y las defensas fagocíticas del huésped son inadecuadas para contener su crecimiento y diseminación. Desde la circulación la *Candida* puede infectar los riñones, fijarse a las prótesis valvulares cardíacas o producir infección candidiásica casi en cualquier parte (p. ej., artritis, meningitis, endoftalmitis). La histología local de las lesiones cutáneas o mucocutáneas se caracteriza por reacción inflamatoria que varía desde abscesos piógenos hasta granulomas crónicos. Las lesiones contienen abundantes yemas de levaduras y pseudohifas. Después de la administración de antimicrobianos por vía oral, con frecuencia tiene lugar un gran incremento de la *Candida* en el intestino y puede penetrar a la circulación a través de la mucosa intestinal.

Datos clínicos

A. Candidiasis cutánea y mucosa

Los factores de riesgo relacionados con la candidiasis superficial incluyen el SIDA, el embarazo, la diabetes, los extremos de la vida, los anticonceptivos orales y el traumatismo (quemaduras, maceración de la piel). El algodoncillo bucal puede presentarse sobre lengua, labios, encías o paladar. Es una lesión en placas o confluyente de pseudomembranas blanquecinas compuestas de células epiteliales, levaduras y pseudohifas. El algodoncillo bucal se desarrolla en la mayoría de los pacientes con SIDA. Otros factores de riesgo incluyen el tratamiento con corticosteroides o antibióticos, el aumento de la concentración de glucosa y la inmunodeficiencia celular. La invasión por levaduras en la mucosa vaginal produce vulvovaginitis, caracterizada por irritación, prurito y secreción vaginal. Este estado con frecuencia va precedido por factores como diabetes, embarazo, o por antibacterianos que alteran la flora microbiana, la acidez local o las secreciones. Otras variantes de candidiasis cutánea incluyen invasión de la piel. Esto pasa cuando la piel se debilita por traumatismo, quemadura o maceración. La infección intertriginosa tiene lugar en las partes húmedas y tibias del cuerpo como la axila, la ingle y los pliegues interglúteo o inframamario; es más común en personas obesas y en los diabéticos. Las partes infectadas se muestran rojas y húmedas y pueden presentar vesículas. La afección interdigital en los dedos aparece después de inmersión prolongada y repetida en el agua; es más común en amas de casa, empleados de bares, cocineros, así como en quienes manejan verduras y pescado. La invasión de las uñas y alrededor de la placa ungueal por *Candida* causa onicomiosis, una inflamación dolorosa y eritematosa del pliegue ungueal parecida a la paroniquia piógena, la cual, con el tiempo, puede destruir la uña.

B. Candidiasis sistémica

Los catéteres permanentes, la intervención quirúrgica, el abuso de drogas intravenosas, la aspiración, o el daño a la piel o al aparato gastrointestinal pueden causar candidemia. En la mayoría de los pacientes con defensas normales las levaduras son eliminadas y la candidemia es transitoria. Sin embargo, los pacientes con defensas fagocíticas com-

prometidas pueden desarrollar lesiones ocultas en cualquier parte, en especial riñón, piel (lesiones maculonodulares), ojos, corazón y meninges. La candidiasis sistémica casi siempre se correlaciona con la administración crónica de corticosteroides o de otros agentes inmunodepresores, con enfermedad hematológica como leucemia, linfoma y anemia aplásica, o con enfermedad granulomatosa crónica. La endocarditis candidiásica suele acompañarse de depósito y crecimiento de levaduras y pseudohifas sobre una prótesis valvular o las vegetaciones cardíacas. Las infecciones del riñón comúnmente son una manifestación sistémica, en tanto que las infecciones del aparato urinario en general se relacionan con una sonda de Foley, diabetes, embarazo o antibióticos antibacterianos.

C. Candidiasis crónica mucocutánea

Casi todas las variedades de esta enfermedad se inician en la infancia temprana, se relacionan con inmunodeficiencia celular y endocrinopatías, y como resultado se produce infección superficial desfigurante de alguna o de todas las partes de piel o mucosas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras incluyen frotis y raspado de lesiones superficiales, sangre, líquido cefalorraquídeo, biopsia de tejido, orina, exudados y material retirado del catéter intravenoso.

B. Examen microscópico

Se pueden examinar biopsias de tejidos, líquido cefalorraquídeo centrifugado y otras muestras en frotis teñidos con Gram en busca de pseudohifas y células en gemación. La piel o el raspado de las uñas se examinan en una gota de hidróxido de potasio al 10% y calcofluor blanco.

C. Cultivo

Todas las muestras se cultivan en medio para hongos o bacteriológico a temperatura ambiente o a 37 °C. Las colonias de levaduras se examinan en busca de pseudohifas. *C. albicans* se identifica por la producción de tubos germinales o clamidosporas. A otras *Candidas* aisladas se les asigna la especie mediante una batería de reacciones bioquímicas. La interpretación de los cultivos positivos varía de acuerdo con la muestra. Los cultivos positivos en sitios normalmente estériles del cuerpo son significativos. El valor diagnóstico de un cultivo cuantitativo de orina depende de la calidad de la muestra y de la cantidad de levaduras. El uso de sondas Foley puede generar urocultivos "falsos-positivos" por contaminación. El hemocultivo positivo puede reflejar candidiasis sistémica o candidemia transitoria debida a una línea intravenosa contaminada. Los cultivos de esputo no tienen valor puesto que las especies de *Candida* son parte de la flora bucal. Los cultivos de las lesiones de piel son confirmatorios.

D. Serología

En general, las pruebas serológicas disponibles en la actualidad tienen especificidad o sensibilidad limitada. Los anticuerpos séricos y la inmunidad mediada por células son

demostrables en la mayoría de las personas, como resultado de la exposición durante toda la vida a especies *Candida*. En la candidiasis sistémica se pueden elevar los títulos de anticuerpos contra varios antígenos de *Candida*, pero aún no existen criterios bien definidos para establecer el diagnóstico serológicamente. La detección de mananos circulantes derivados de la pared celular, utilizando una prueba de aglutinación en látex o un inmunoanálisis enzimático, es mucho más específica, aunque esta prueba carece de sensibilidad debido a que muchos pacientes resultan positivos sólo de manera transitoria, o porque no desarrollan títulos de antígenos significativos o suficientemente detectables sino hasta etapas tardías de la enfermedad.

Inmunidad

La base de la resistencia a la candidiasis es compleja y aún no entendida por completo. La respuesta inmunitaria mediada por células, en especial células CD4, es importante en el control de la candidiasis mucocutánea, y los neutrófilos probablemente son decisivos para la resistencia a la candidiasis sistémica.

Tratamiento

El algodoncillo y otras variedades mucocutáneas de la candidiasis en general se tratan con nistatina, ketoconazol o fluconazol tópicos. La candidiasis sistémica se trata con anfotericina B, a veces junto con flucitosina, fluconazol o capsufungina por vía oral. Las lesiones cutáneas desaparecen con mayor rapidez al eliminar los factores contribuyentes, como humedad excesiva o antibacterianos. La candidiasis mucocutánea crónica responde bien al ketoconazol y otros azoles, pero los pacientes tienen un defecto genético y con frecuencia requieren tratamiento durante toda la vida.

Con frecuencia es difícil establecer un diagnóstico temprano de candidiasis sistémica; los signos clínicos no son definitivos y los cultivos, casi siempre negativos. Además, no hay un régimen profiláctico establecido para los pacientes en riesgo, aunque casi siempre está indicado el tratamiento con un azol o un ciclo breve de anfotericina B en poca dosis para los pacientes inmunodebilitados, febriles o debilitados, que no responden a la terapéutica antibacteriana.

Epidemiología y control

La medida preventiva más importante es evitar alteración del balance normal entre la flora microbiana y las defensas intactas del huésped. La candidiasis no es transmisible, puesto que normalmente casi todas las personas albergan al microorganismo.

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS

El *Cryptococcus neoformans* es una levadura caracterizada por una cápsula polisacárida gruesa. Se encuentra en todo

el mundo y es muy abundante en las heces secas de palomas. La criptococosis por lo general se relaciona con inmunodeficiencia, SIDA o un proceso maligno, pero también puede aparecer en los huéspedes aparentemente normales.

Morfología e identificación

En el cultivo, el *C. neoformans* produce una colonia mucosa y blanquecina en 2 a 3 días. Microscópicamente, en cultivo o material clínico, *C. neoformans* es una levadura esférica en gemación (5 a 10 μm de diámetro), rodeada por una cápsula gruesa (figura 45–21). Existen varias especies no patógenas de *Cryptococcus*. Los miembros del género están encapsulados y contienen ureasa. El *C. neoformans* difiere de las especies no patógenas de *Cryptococcus* por su capacidad para crecer a 37 °C y por la producción de fenoloxidas. La identificación del aislado se puede confirmar al demostrar la presencia de fenoloxidas o un patrón específico de asimilación de carbohidratos. Se tienen definidos cinco tipos de antiseros absorbidos (A-D y AD) y tres variedades —*C. neoformans* variedad *grubii* (serotipo A), *C. neoformans* variedad *neoformans* (serotipo D) y *C. neoformans* variedad *gatti* (serotipos B o C)— que difieren en sus genotipos, ecología, algunas reacciones químicas y manifestaciones clínicas. Los serotipos A, D y AD tienen una distribución mundial y los serotipos B y C se relacionan con árboles de eucalipto en regiones tropicales. Se puede demostrar la reproducción sexual en el laboratorio y el apareamiento con éxito resulta en la producción de micelios y basidiosporas: los correspondientes teleomorfos de las dos variedades son *Filobasidiella neoformans* variedad *Beoformans* (serotipos A y D) y *Filobasidiella neoformans* variedad *bacillispora* (serotipos B y C).

Estructura antigénica

Los polisacáridos capsulares de cualquier serotipo poseen estructura similar: son polímeros largos no ramificados que constan de un esqueleto de polimannosa con uniones α -1,3

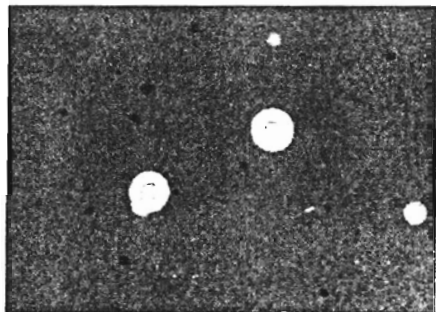


Figura 45–21. *Cryptococcus neoformans*. Preparación de líquido cefalorraquídeo en tinta china. La cápsula grande es visible.

y ramas monoméricas con uniones β de xilosa y ácido glucurónico. Durante la infección el polisacárido capsular se solubiliza en el líquido cefalorraquídeo, suero u orina y se puede detectar mediante aglutinación de partículas de látex recubiertas con anticuerpo al polisacárido. Con testigos apropiados, esta prueba es diagnóstica de criptococosis. También se pueden medir los anticuerpos del paciente a la cápsula, pero esto no se utiliza en el diagnóstico.

Patogenia

La infección es subsecuente a la inhalación de las células de levadura que se encuentran secas en la naturaleza, con una cápsula mínima, y con facilidad forman aerosoles. La infección pulmonar primaria puede ser asintomática o producir una infección respiratoria similar a influenza, la cual casi siempre se resuelve de manera espontánea. En los pacientes comprometidos las levaduras pueden multiplicarse y diseminarse a otras partes del cuerpo, pero con preferencia al sistema nervioso central para producir meningoencefalitis criptocócica. Otros sitios comunes de diseminación incluyen la piel, los ojos y la glándula prostática. La reacción inflamatoria es con frecuencia mínima o granulomatosa.

Datos clínicos

La principal manifestación clínica es una meningitis crónica con remisiones espontáneas y exacerbaciones. A veces la meningitis simula tumor cerebral, absceso cerebral, enfermedad degenerativa del sistema nervioso central, o cualquier meningitis micobacteriana o micótica. La presión del líquido cefalorraquídeo y las proteínas pueden aumentar y la cifra de células se eleva, en tanto que la glucosa es normal o disminuye. Los pacientes pueden quejarse de cefalea, rigidez de cuello y desorientación. Además, puede haber lesiones en piel, pulmones u otros órganos.

El curso de la meningitis criptocócica puede ser fluctuante durante períodos prolongados, pero en último término todos los casos no tratados son mortales. Alrededor de 5 a 8% de pacientes con SIDA desarrolla meningitis criptocócica. La infección no se transmite de persona a persona.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Las muestras incluyen líquido cefalorraquídeo, tejido, exudados, esputo, sangre, orina y suero. El líquido cefalorraquídeo se centrifuga antes de examinarlo en el microscopio o someterlo a cultivo.

B. Examen microscópico

Las muestras se examinan en fresco, tanto directamente como después de mezclarlas con tinta india, que delinea la cápsula.

C. Cultivo

En unos pocos días se desarrollan las colonias sobre casi todos los medios, a temperatura ambiente o 37 °C. Los medios con cicloheximida inhiben el *C. neoformans* y de-

ben evitarse. Se pueden identificar en cultivos por crecimiento a 37 °C y detección de ureasa. Alternativamente, sobre un sustrato fenólico apropiado, la fenoloxidasas del *C. neoformans* produce melanina en las paredes celulares y las colonias desarrollan un pigmento marrón.

D. Serología

Se pueden efectuar pruebas para antígeno capsular en el líquido cefalorraquídeo y el suero. La prueba de aglutinación con látex en laminilla para antígeno criptocócico es positiva en 90% de los pacientes con meningitis criptocócica. Con tratamiento eficaz, el título de antígenos disminuye, excepto en los pacientes con SIDA, quienes pueden mantener títulos antígenicos grandes durante periodos largos.

Tratamiento

La combinación terapéutica de anfotericina B y flucitossina se considera el tratamiento estándar para la meningitis criptocócica, aunque el beneficio de añadir flucitossina aún es objeto de controversia. La anfotericina B (con o sin flucitossina) es curativa en la mayoría de los pacientes. Puesto que los pacientes con SIDA y criptococosis casi siempre sufrirán recaídas al interrumpirse la anfotericina B, requieren tratamiento supresor permanente con fluconazol. El fluconazol ofrece penetración excelente al sistema nervioso central.

Epidemiología y control

Las defecaciones de las aves (en particular palomas) son medios ricos para el crecimiento del *C. neoformans* y sirven como reservorio de la infección. El microorganismo crece abundantemente en las excretas de palomas, pero las aves no se infectan. Además de los pacientes con SIDA o con enfermedades malignas, los pacientes que continúan un tratamiento a base de corticosteroides son muy susceptibles a la criptococosis.

ASPERGILOSIS

Las aspergilosis son varias enfermedades causadas por algunas especies de *Aspergillus*. Las especies de *Aspergillus* son saprofitos ubicuos en la naturaleza, y la aspergilosis tiene lugar en todo el mundo. El *A. fumigatus* es el patógeno humano más común, pero muchos otros, incluso *A. flavus*, *A. niger* y *A. terreus*, pueden causar enfermedad. Este moho produce abundantes conidios pequeños que forman aerosol con facilidad. Después de inhalar estos conidios, las personas atópicas casi siempre desarrollan reacción alérgica grave a los antígenos conidiales. En los pacientes inmunodeficientes, sobre todo con leucemia, con trasplantes de médula ósea y personas a quienes se administran corticosteroides, los conidios pueden germinar para producir hifas que invaden los pulmones y otros tejidos.

Morfología e identificación

Las especies de *Aspergillus* crecen con rapidez, producen hifas aéreas que poseen estructuras conidiales características: conidióforos alargados con vesículas terminales, sobre las cuales las filiales producen cadenas basipétalas de conidios (figura 45-9). Las especies se identifican según sus diferencias morfológicas en estas estructuras, las cuales incluyen tamaño, forma, textura y color del conidio.

Patogenia

En los pulmones, los macrófagos alveolares pueden ingerir y destruir los hongos. Sin embargo, los macrófagos de animales tratados con corticosteroides o de pacientes inmunodeficientes muestran menor capacidad para detener al hongo. En el pulmón el hongo aumenta de volumen y germina para producir hifas que tienden a invadir las cavidades preexistentes (aspergiloma o bola de hongos) o los vasos sanguíneos.

Datos clínicos

A. Variantes alérgicas

En algunas personas atópicas el desarrollo de anticuerpos IgE a los antígenos de superficie de los conidios de *Aspergillus* induce una reacción asmática inmediata en una segunda exposición. En otras, las conidios germinan y las hifas colonizan el árbol bronquial sin invadir el parénquima pulmonar. Este fenómeno es característico de la **aspergilosis alérgica broncopulmonar**, clínicamente definida por asma, infiltrados pulmonares recidivantes, eosinofilia e hipersensibilidad en la prueba cutánea de tipo I (inmediata) y tipo III (Arthus) al antígeno *aspergillus*. Muchos pacientes producen esputo con *Aspergillus* y precipitinas en suero. Sufren disnea y pueden desarrollar un proceso de cicatrización pulmonar permanente. Los huéspedes normales expuestos a dosis masivas de conidios pueden desarrollar **alveolitis alérgica extrínseca**.

B. Aspergiloma y colonización extrapulmonar

El aspergiloma se presenta cuando los conidios inhalados penetran a una cavidad existente, germinan y producen hifas abundantes en el espacio pulmonar anormal. Pacientes con enfermedad cavitaria previa (p. ej., tuberculosis, sarcoidosis, enfisema) están en riesgo. Algunos pacientes son asintomáticos; otros presentan tos, disnea, pérdida de peso, fatiga y hemoptisis. El aspergiloma raras veces es invasor. Las infecciones circunscritas, no invasoras (colonización), por especies de *Aspergillus* pueden afectar los senos paranasales, el conducto auditivo, la córnea o las uñas.

C. Aspergillosis invasora

Después de la inhalación y de la germinación de los conidios, se desarrolla enfermedad invasora como un proceso neumónico agudo con o sin diseminación. Los pacientes en riesgo son aquellos con leucemia linfocítica o mielógena, linfoma, receptores de trasplante de médula ósea, y en es-

pecial las personas a quienes se administran corticosteroides. Los síntomas incluyen fiebre, tos, disnea y hemoptisis. Las hifas invaden la luz y las paredes de los vasos sanguíneos y causan trombosis, infarto y necrosis. Desde los pulmones la enfermedad se puede propagar al aparato gastrointestinal, riñón, hígado, cerebro u otros órganos y producir abscesos y lesiones necróticas. Sin tratamiento oportuno el pronóstico de los pacientes con aspergilosis invasora es grave. Las personas con enfermedad subyacente menos comprometida pueden desarrollar aspergilosis pulmonar necrosante crónica, una enfermedad más leve.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

El esputo, otras muestras del aparato respiratorio, o el tejido de biopsia de pulmón suministran buenas muestras. Las de sangre no son útiles.

B. Examen microscópico

En el examen directo de esputo con KOH o calcofluor blanco, o en los cortes histológicos, las hifas de las especies de *Aspergillus* son hialinas, septadas, de anchura uniforme (casi 4 µm) y con ramificaciones dicotomizadas.

C. Cultivo

A la temperatura ambiente las especies de *Aspergillus* crecen en unos pocos días en la mayor parte de los medios. Estas especies se identifican según la morfología de sus estructuras conidiales.

D. Serología

La prueba de ID para precipitinas de *A. fumigatus* es positiva en más de 80% de los pacientes con aspergiloma o variantes alérgicas de aspergilosis, pero las pruebas de anticuerpos no son útiles en el diagnóstico de la aspergilosis invasora. Sin embargo, tiene valor diagnóstico una prueba serológica que detecta galactomananos circulantes derivados de la pared celular.

Tratamiento

El aspergiloma se trata con itraconazol o anfotericina B y cirugía. La aspergilosis invasiva requiere administración rápida de la formulación nativa o lipídica de anfotericina B o voriconazol, que la mayor parte de las veces se complementa con inmunoterapia con citocinas. La enfermedad pulmonar necrotizante crónica menos grave se puede tratar con voriconazol o itraconazol. Las variedades alérgicas de la aspergilosis se tratan con corticosteroides o cromoglicato disódico.

Epidemiología y control

Personas con riesgo de enfermedad alérgica o de aspergilosis invasora deben evitar la exposición a conidios de especies de *Aspergillus*. En la mayor parte de las unidades de trasplante de médula ósea se emplean sistemas de aire acondicionado filtrado, vigilancia de la contaminación atmosférica

rica en la habitación de los pacientes, restricción de visitas y otras medidas instituidas para aislar a los pacientes y reducir al mínimo el riesgo de exposición a conidios de *Aspergillus* y otros hongos. A los pacientes en riesgo de aspergilosis invasora se les administran anfotericina B o itraconazol en poca dosis profiláctica.

MUCORMICOSIS

La mucormicosis (zigomicosis) es una micosis oportunista causada por algunos mohos clasificados en el orden Mucorales de la clase Zigomicetes. Estos hongos son saprofitos ubicuos termotolerantes. Los principales patógenos de este grupo son las especies de los géneros *Rhizopus* (figura 45-4), *Rhizomucor*, *Absidia*, *Cunninghamella* y *Mucor*. Las condiciones que colocan al paciente en riesgo incluyen la acidosis—en especial la relacionada con la diabetes mellitus—, las leucemias, los linfomas, el tratamiento con corticosteroides, las quemaduras graves, la inmunosuficiencia y otras enfermedades debilitantes, así como la diálisis con el quelante de hierro deferoxamina.

La principal variante clínica es la mucormicosis rino-cerebral, como resultado de la germinación de esporangiosporas en los conductos nasales e invasión de los vasos sanguíneos por hifas, lo cual produce trombosis, infarto y necrosis. La enfermedad puede progresar con rapidez para invadir los senos paranasales, ojos, huesos craneales y cerebro. Los vasos sanguíneos y los nervios sufren daño, y los pacientes desarrollan edema de la región facial afectada, exudado sanguinolento nasal y celulitis orbital. Después de inhalar las esporangiosporas sobreviene mucormicosis torácica con invasión del parénquima y los vasos pulmonares. En ambas localizaciones la necrosis isquémica causa destrucción masiva de tejido. Con menor frecuencia este proceso se ha relacionado con vendajes de heridas contaminadas y otras situaciones.

El examen directo o el cultivo de la secreción nasal, tejido o esputo revelan hifas anchas (10 a 15 µm) de espesor desigual, ramificación irregular y septación escasa. Estos hongos crecen con rapidez sobre medios de laboratorio y producen abundantes colonias algodonosas. La identificación se basa en las estructuras esporangiales. El tratamiento consiste en desbridamiento quirúrgico radical, administración con prontitud de anfotericina B y control de la enfermedad subyacente. Muchos pacientes sobreviven, pero puede haber secuelas como parálisis facial parcial o pérdida de un ojo.

PNEUMOCYSTIS JIROVECI

Pneumocystis jiroveci causa neumonía en los pacientes inmunodeficientes; la diseminación es rara. Hasta hace poco el *P. jiroveci* se consideró un protozoario, pero estudios de biología molecular demostraron que es un hongo estrechamente interrelacionado con ascomicetos. Las especies de *Pneumocystis* se encuentran en los pulmones de muchos mamíferos (ratas, ratones, perros, gatos, hurones, conejos)

pero raras veces causan enfermedad, salvo en el huésped inmunodeficiente. *P. jiroveci* es la especie humana, y la más común *P. carinii* se encuentra sólo en ratas. Hasta antes de la epidemia de SIDA, la enfermedad humana se confinó a neumonitis de células plasmáticas intersticiales en los lactantes desnutridos y los pacientes inmunodeprimidos (terapia con corticosteroides, antineoplásica y receptores de trasplante). Antes de la aplicación de un régimen quimioprofilático eficaz, era causa principal de muerte en los pacientes con SIDA. La quimioprofilaxis redujo de manera notable la incidencia de neumonía, pero la infección está en aumento en otros órganos, principalmente el bazo, los ganglios linfáticos y la médula ósea.

P. jiroveci tiene formas morfológicamente distintas: trofozoitos de pared delgada y quistes de paredes gruesas, esféricos o elípticos (4 a 6 µm), que contienen 4 a 8 núcleos. Los quistes pueden teñirse con colorantes argénticos, azul de toluidina y calcofluor blanco. En casi todas las muestras clínicas los trofozoitos y quistes se encuentran dentro de una masa espesa que probablemente refleja su modo de crecimiento en el huésped. *P. jiroveci* contiene una glucoproteína de superficie detectable en el suero de las personas normales o con enfermedad aguda.

P. jiroveci es un patógeno extracelular. En el pulmón el crecimiento se limita a la capa de surfactante por encima del epitelio alveolar. En los pacientes no afectados por SIDA la infiltración de los espacios alveolares con células plasmáticas produce neumonitis intersticial de células plasmáticas. Las células plasmáticas están ausentes en la neumonía por *pneumocystis* relacionada con SIDA. El bloqueo del intercambio de oxígeno en la interfase produce cianosis.

Para establecer el diagnóstico de neumonía por *pneumocystis* se tiñen y examinan muestras de lavado broncoalveolar, biopsia de pulmón, o esputo inducido, en busca de quistes o trofozoitos. Las tinciones apropiadas incluyen Giemsa, azul de toluidina, metenamina argéntica y calcofluor blanco. Se dispone de un anticuerpo monoclonal específico para el examen directo de las muestras mediante fluorescencia. El *pneumocystis* no puede cultivarse. Aunque clínicamente no es útil, se puede emplear la pruebas serológicas para establecer la prevalencia de la infección.

En ausencia de inmunodepresión el *P. jiroveci* no causa enfermedad. La evidencia sugiere que la mayoría de las personas se infectan desde la infancia temprana y el microorganismo se distribuye ampliamente en el mundo. La inmunidad mediada por células desempeña presuntamente una función dominante en la resistencia a la enfermedad, puesto que los pacientes con SIDA casi siempre muestran títulos significativos de anticuerpos y en general no se observa neumonía por *pneumocystis* en tanto la cifra de linfocitos CD4 no disminuya por abajo de 400/µL.

Los casos agudos de neumonía por *pneumocystis* se tratan con trimetoprim-sulfametoxazol o isetonato de pentamida. La profilaxis puede efectuarse con dosis diarias de TMP-SMZ o pentamida en aerosol. También se dispone de otros fármacos.

No se ha demostrado ningún reservorio natural y el agente puede ser un miembro obligado de la flora normal. A las personas en riesgo se les suministra quimioprofilaxis. No está claro el modo de infección y a veces es posible la transmisión por aerosol.

OTRAS MICOSIS OPORTUNISTAS

Las personas con defensas comprometidas son susceptibles a infecciones por muchos de los miles de mohos saprofitos que existen en la naturaleza y producen esporas en la atmósfera. Estas micosis oportunistas tienen lugar con menor frecuencia que la candidiasis, la aspergilosis y la mucormicosis, debido a que los hongos son menos patógenos. Los avances de la medicina han provocado que sea mayor el número de pacientes gravemente comprometidos en quienes los hongos normalmente no patógenos pueden convertirse en patógenos oportunistas. Las especies de *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Bipolaris*, *Curvularia*, *Alternaria* y muchas otras pueden causar infecciones sistémicas devastadoras. Algunos oportunistas se restringen a ciertas regiones geográficas. Por ejemplo, en Asia los pacientes con SIDA contraen infecciones sistémicas con *Penicillium marneffei*, un patógeno dimorfo endémico de la región. Otro factor que contribuye es el uso cada vez mayor de antimicóticos, el cual ha conducido a seleccionar especies y cepas de hongos resistentes.

HIPERSENSIBILIDAD A LOS HONGOS

Durante toda la vida el aparato respiratorio está expuesto a los conidios y a las esporas de muchos hongos saprofitos en la atmósfera. Estas partículas con frecuencia poseen antígenos potentes de superficie capaces de estimular e inducir fuertes reacciones alérgicas. Estas respuestas de hipersensibilidad no requieren crecimiento o incluso viabilidad de los hongos inductores, aunque en algunos casos (aspergilosis alérgica broncopulmonar) pueden tener lugar simultáneamente infección y alergia. Según el sitio donde se deposita el alérgeno, un paciente puede presentar rinitis, asma bronquial, alveolitis o neumonitis generalizada. Las personas atópicas son más susceptibles. El diagnóstico y la diversidad de las reacciones de hipersensibilidad del paciente pueden determinarse mediante pruebas cutáneas con extractos fúngicos. A veces el tratamiento implica evitar el alérgeno agresor, el tratamiento con corticosteroides o los intentos de desensibilización.

La exposición a grandes cantidades de esporas fúngicas en lugares cerrados ha originado el reconocimiento de una situación descrita como "síndrome del edificio enfermo" por la que la humedad de los materiales de construcción, como madera y madera comprimida, permite que florezcan mohos contaminantes. La producción y la contaminación del aire de interiores con grandes cantidades de conidios han dado como resultado casos debilitantes de reacciones alérgicas o tóxicas. Con frecuencia, la infestación por moho es demasiado extensa para eliminarla con fungicidas o filtración, y se han tenido que demoler muchos de estos edificios. Los mohos ofensivos son, por lo general, ascomicetos no infecciosos, como *stachybotrys*, *cladosporium*, *fusarium* y otros.

MICOTOXINAS

Muchos hongos producen sustancias venenosas, denominadas micotoxinas, capaces de causar intoxicación aguda o crónica y daño. Las micotoxinas son metabolitos secundarios y sus efectos no dependen de la infección o de la viabilidad de los hongos. Los hongos producen varias micotoxinas (p. ej., especies de *Amanita*) y su ingestión causa una enfermedad relacionada con la dosis denominada **micetismo**. La cocción tiene poco efecto sobre la potencia de las toxinas, las cuales pueden causar daño mortal a grave al hígado y al riñón. Otros hongos producen compuestos mutágenos y carcinógenos a veces sumamente tóxicos en los animales de experimentación. Uno de los más potentes es la **aflatoxina**, elaborada por el *Aspergillus flavus* y mohos interrelacionados, la cual es contaminante frecuente de cacahuates, maíz, granos y otros alimentos.

QUIMIOTERAPIA ANTIMICÓTICA

Existe un número limitado, pero creciente, de antibióticos que pueden emplearse para tratar las infecciones micóticas. Casi todos tienen una o más limitaciones, como sus efectos adversos intensos, el espectro antimicótico reducido, la escasa penetración a ciertos tejidos y la capacidad de inducir la selección de hongos resistentes. En la actualidad se intentan desarrollar nuevos fármacos prometedores, y otros se evalúan en experiencias clínicas. Es difícil encontrar "blancos" adecuados en los hongos puesto que, al igual que los humanos, son eucariontes. Muchos de sus procesos celulares y moleculares son similares, y con frecuencia hay una amplia homología en genes y proteínas.

Las clases de fármacos disponibles en la actualidad incluyen los polienos (anfotericina B y nistatina), que se unen al ergosterol en la membrana celular; la flucitosina, un análogo de la pirimidina; los azoles y otros inhibidores de la síntesis de ergosterol, como las alilaminas; las equinocandinas, que inhiben la síntesis de β -glucano de la pared celular; y griseofulvina, que interfiere con el ensamblaje de microtúbulos. En la actualidad, están en investigación inhibidores de la síntesis de pared celular, como nikomicina y pradimicina, y sordarin, que inhiben el factor de elongación 2.

ANFOTERICINA B

Descripción

El principal antibiótico polieno es la anfotericina B, un metabolito del *Streptomyces*. La anfotericina B es el fármaco más eficaz para las micosis sistémicas graves. Posee un

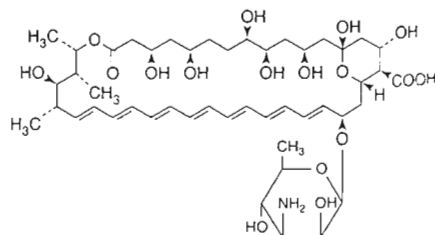
amplio espectro y raras veces induce resistencia. El mecanismo de acción de los polienos implica la formación de complejos con el ergosterol en las membranas celulares fúngicas; como resultado hay daño a la membrana y salida del contenido celular. La anfotericina B posee mayor afinidad por el ergosterol que por el colesterol, el esteroide predominante en membranas celulares de mamíferos. La anfotericina B empacada en liposomas y emulsiones lipoidales ha mostrado eficacia superior en los estudios experimentales y algunos resultados excelentes en los estudios clínicos. Estas formulaciones disponibles hoy día pueden reemplazar las preparaciones convencionales. Las preparaciones lipídicas son menos tóxicas y permiten emplear concentraciones más altas de anfotericina B.

Mecanismo de acción

La anfotericina B se administra por vía intravenosa en forma de micelas con desoxicolato sódico disueltas en solución de glucosa. Aunque el fármaco se distribuye ampliamente en los tejidos, penetra escasamente al líquido cefalorraquídeo. La anfotericina B se enlaza con firmeza al ergosterol en la membrana celular. Esta interacción altera la fluidez de la membrana y tal vez produce poros en ella, a través de los cuales se pierden iones y moléculas pequeñas. A diferencia de casi todos los otros antimicóticos, la anfotericina B es capaz de provocar muerte celular. Las células de los mamíferos carecen de ergosterol y son relativamente resistentes a esta acción. La anfotericina B se une con debilidad al colesterol en las membranas de los mamíferos; esta interacción puede explicar su toxicidad. En poca concentración la anfotericina B tiene efecto inmunostimulante.

Indicaciones

La anfotericina B tiene amplio espectro con eficacia demostrada contra la mayor parte de las micosis sistémicas principales, incluso coccidioidomicosis, blastomicosis, histoplasmosis, esporotricosis, criptococosis, aspergilosis, mucormicosis y candidiasis. La respuesta a la anfotericina B resulta influida por la dosis y el régimen de administración, por el sitio de la infección micótica, el estado inmu-



Anfotericina B

tario del paciente y por la susceptibilidad inherente del patógeno. Penetra poco a las articulaciones y al sistema nervioso central y en algunas infecciones se recomiendan las administraciones intratecal o intraarticular. La anfotericina B se emplea en combinación con flucitosina para tratar la criptococosis. Algunos hongos como la *Pseudallescheria boydii* no responden bien al tratamiento con anfotericina B.

Efectos adversos

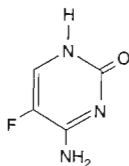
Todos los pacientes presentan reacciones adversas a la anfotericina B, aunque éstas han disminuido mucho con las nuevas preparaciones lipídicas. Las reacciones agudas que comúnmente acompañan la administración intravenosa de anfotericina B incluyen fiebre, escalofríos, disnea e hipotensión. Estos efectos por lo general pueden aliviarse mediante administración previa o concomitante de hidrocortisona o acetaminofén. Durante el tratamiento se desarrolla tolerancia a los efectos colaterales agudos.

Los efectos colaterales crónicos usualmente son resultado de la nefrotoxicidad. Durante la terapéutica con anfotericina B casi siempre se presenta azoemia, y las concentraciones de creatinina sérica y de iones deben ser estrechamente vigiladas. Con frecuencia también se observan hipopotasemia, anemia, acidosis tubular renal, cefalea, náuseas y vómito. Aunque la nefrotoxicidad es parcialmente reversible, puede presentarse reducción permanente de las funciones renales glomerular y tubular. Este daño puede correlacionarse con la dosis total administrada de anfotericina B. La toxicidad disminuye en gran medida con formulaciones lipídicas de anfotericina B (es decir, Abelect, Anfotec y AmBisome).

FLUCITOSINA

Descripción

La flucitosina (5-fluorocitosina) es un derivado fluorado de la citosina. Es un compuesto antimicótico por vía oral utilizado principalmente junto con la anfotericina B para tratar la criptococosis o la candidiasis. También es eficaz contra muchas infecciones micóticas dematiáceas. Penetra bien en todos los tejidos, incluso el líquido cefalorraquídeo.



Flucitosina

Mecanismo de acción

Una permeasa transporta activamente la flucitosina al interior de las células fúngicas. La enzima citosina desaminasa fúngica la convierte en 5-fluorouracilo y la incorpora en el

monofosfato del ácido 5-fluorodesoxiuridílico, que interfiere con la actividad de la timidilato sintetasa y la síntesis del DNA. Las células de mamífero carecen de citosina desaminasa y, por tanto, están protegidas de los efectos tóxicos del fluorouracilo. Desafortunadamente, surgen con rapidez mutantes resistentes que limitan la utilidad de la flucitosina.

Indicaciones

La flucitosina se emplea principalmente junto con la anfotericina B para el tratamiento de la criptococosis y la candidiasis. *In vitro* actúa de manera sinérgica con la anfotericina B contra estos microorganismos y las experiencias clínicas sugieren un efecto benéfico de la combinación, sobre todo en la meningitis cryptocócica. También se ha demostrado que esta combinación retarda o limita el surgimiento de mutantes resistentes a la flucitosina. La flucitosina es eficaz por sí misma contra la cromoblastomicosis y otras infecciones micóticas dematiáceas.

Efectos adversos

Aunque es probable que la flucitosina en sí tenga menor toxicidad para las células de mamífero, y es relativamente bien tolerada, su conversión a fluorouracilo genera un compuesto altamente tóxico que puede ser la causa de los principales efectos colaterales. La administración prolongada de flucitosina provoca supresión de la médula ósea, pérdida del cabello y anomalías de la función hepática. La conversión de flucitosina a fluorouracilo por las bacterias entéricas puede causar colitis. Los pacientes con SIDA pueden ser más susceptibles a la supresión de la médula ósea por la flucitosina, y se debe vigilar estrechamente la concentración sérica.

AZOLES

Descripción

Los imidazoles antimicóticos (p. ej., ketoconazol) y los triazoles (fluconazol, voriconazol e itraconazol) son fármacos por vía oral utilizados para tratar una amplia variedad de infecciones micóticas sistémicas y localizadas (véase figura 45-22). Las indicaciones de uso aún están bajo evaluación, pero ya han suplido a la anfotericina B en muchas micosis menos graves, debido a que se pueden administrar por vía oral y son menos tóxicos. Otros imidazoles —el miconazol y el clotrimazol—, se emplean por vía tópica y se estudian posteriormente.

Mecanismo de acción

Los azoles interfieren con la síntesis del ergosterol. Bloquean la desmetilación 14- α del lanosterol dependiente del citocromo P450, precursor del ergosterol en hongos, y del colesterol en células de mamíferos. Sin embargo, el ci-

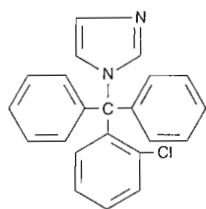
tocromo P450 del hongo es aproximadamente de 100 a 1 000 veces más sensible a los azoles que los sistemas de los mamíferos. Se han diseñado varios azoles para mejorar su eficacia, disponibilidad y farmacocinética, y reducir sus efectos adversos. Éstos son fármacos micostáticos.

Indicaciones

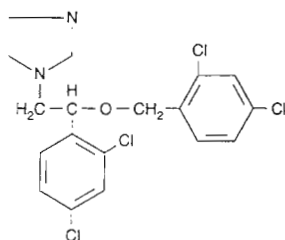
Las indicaciones para el empleo de azoles antimicóticos se ampliarán conforme estén disponibles los resultados de los estudios a largo plazo, y también nuevos azoles. Las indicaciones aceptadas para el empleo de azoles antimicóticos se mencionan después.

El ketoconazol es útil en el tratamiento de la candidiasis mucocutánea crónica, dermatofitosis, y blastomicosis, coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis e histoplasmo-

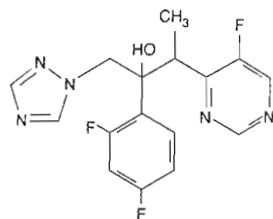
sis no meníngeas. De los diferentes azoles, el fluconazol ofrece la mejor penetración al sistema nervioso central. Se emplea como tratamiento de sostén en las meningitis criptocócica y coccidioidal. La candidiasis bucofaringea en los pacientes con SIDA y la candidemia en los pacientes inmunocompetentes también se pueden tratar con fluconazol. En la actualidad, el itraconazol es el agente de primera elección para histoplasmosis y blastomicosis, así como ciertos casos de coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis y aspergilosis. También se ha demostrado que es eficaz en el tratamiento de cromomicosis y onicomosis debido a dermatofitos y otros mohos. El triazol más reciente es el voriconazol, que se puede administrar por vía oral o intravenosa, y exhibe un espectro amplio de actividad contra muchos mohos y levaduras, en particular aspergilosis, fusariosis, pseudallescheriasis y otros patógenos sistémicos menos comunes.



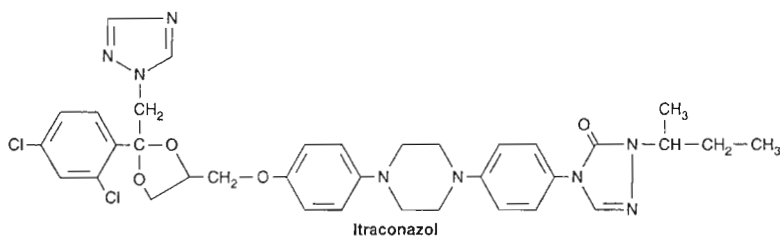
Clotrimazol



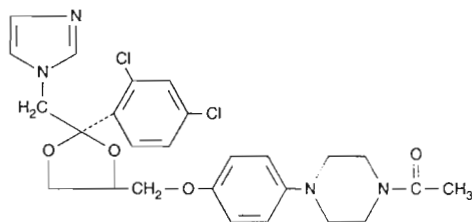
Miconazol



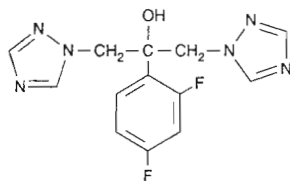
Voriconazol



Itraconazol



Ketoconazol



Fluconazol

Figura 45-22. Estructuras de azoles antimicóticos. (Reproducido con autorización de Katzung BG [editor]: *Basic and Clinical Pharmacology*, 9th ed. McGraw-Hill, 2003.)

Efectos adversos

Los efectos adversos de los azoles se relacionan principalmente con su capacidad para inhibir las enzimas del citocromo P450 de los mamíferos. El ketoconazol es el más tóxico y dosis terapéuticas pueden inhibir la síntesis de la testosterona y el cortisol, lo cual puede causar varios efectos reversibles como ginecomastia, disminución de la libido, impotencia, irregularidad menstrual y en ocasiones insuficiencia suprarrenal. En las dosis terapéuticas recomendadas, el fluconazol y el itraconazol no causan trastorno significativo a la esteroidogénesis del mamífero. Todos los azoles antimicóticos pueden causar tanto aumento asintomático de las pruebas funcionales hepáticas como casos raros de hepatitis. El voriconazol causa daño visual reversible en casi 30% de los pacientes.

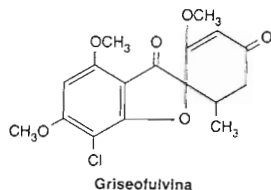
Puesto que los azoles antimicóticos interactúan con las enzimas del P450, las cuales también se encargan del metabolismo de otros fármacos, pueden presentarse algunas interacciones farmacológicas importantes. Cuando se emplean isoniácida, fenitoína o rifampicina se puede observar incremento de las concentraciones del azol. La terapéutica antimicótica con azoles también puede conducir a concentraciones en suero mayores de las esperadas de ciclosporina, fenitoína, hipoglucemiantes orales, anticoagulantes, digoxina y probablemente muchos otros. Para alcanzar valores terapéuticos apropiados a veces es necesario vigilar la concentración en el suero de estos fármacos.

EQUINOCANDINAS

Las equinocandinas son una nueva clase de agentes que perturban la síntesis del polisacárido β -glucano penetrante de la pared celular al inhibir a la sintasa de 1,3- β -glucano y perturbar la integridad de la pared celular. El fármaco recientemente autorizado, caspofungina, ha mostrado eficacia contra la aspergilosis invasiva y la candidiasis sistémica debidas a una amplia variedad de especies *Candida*. Este agente intravenoso puede ser indicado en particular para aspergilosis refractaria. Hay buena tolerancia a la caspofungina.

GRISEOFULVINA

La griseofulvina es un antibiótico administrado por vía oral derivado de especies de *Penicillium*. Se emplea para tratar dermatofitosis y debe administrarse durante periodos prolongados. La griseofulvina se absorbe poco y se concentra en el estrato córneo, donde inhibe el crecimiento de las hifas. No tiene efecto sobre otros hongos.



Después de su administración oral, la griseofulvina se distribuye por todo el cuerpo, pero se acumula en los tejidos queratinizados. Dentro del hongo la griseofulvina interactúa con los microtúbulos y altera la función del huso mitótico causando inhibición del crecimiento. Sólo las hifas en crecimiento activo son afectadas. La griseofulvina es clínicamente útil para tratar la infección con dermatófitos de piel, cabellos y uñas. Generalmente se requiere terapéutica oral de semanas a meses. La griseofulvina en general es bien tolerada. El efecto adverso más común es la cefalea, que casi siempre se resuelve sin interrumpir el fármaco. Con menor frecuencia se observan trastornos gastrointestinales, somnolencia y hepatotoxicidad.

TERBINAFINA

La terbinafina es un fármaco alilamina; bloquea la síntesis del ergosterol al inhibir la escualeno epoxidasa. La terbinafina se administra por vía oral para tratar infecciones por dermatófitos. Ha demostrado gran eficacia en el tratamiento de las infecciones ungueales y también de otras dermatofitosis. No son comunes los efectos adversos, pero éstos incluyen malestar gastrointestinal, cefalea, reacciones cutáneas y pérdida del sentido del gusto. Para el tratamiento a largo plazo de la tiña de las uñas, la terbinafina, y también el itraconazol y el fluconazol, puede administrarse de manera intermitente mediante un protocolo de tratamiento por pulsos.

ANTIMICÓTICOS TÓPICOS

Nistatina

La nistatina es un antibiótico polieno estructuralmente interrelacionado con la anfotericina B y con un modo similar de acción. Se puede emplear para tratar las infecciones locales por *Candida* en la boca y la vagina. La nistatina también puede suprimir la candidiasis esofágica subclínica y el crecimiento excesivo de *Candida* en el aparato gastrointestinal. No se absorbe a la circulación general y tampoco tiene efectos adversos. Sin embargo, la nistatina es bastante tóxica para su administración parenteral.

Clotrimazol, miconazol y otros azoles

Varios azoles antimicóticos demasiado tóxicos para uso sistémico se encuentran disponibles para administración tópica. El clotrimazol y el miconazol se pueden obtener en varias formulaciones. El econazol, el butoconazol, el tioconazol y el terconazol también están disponibles. Todos estos compuestos al parecer tienen eficacia comparable.

Los azoles tópicos muestran amplio espectro de actividad. La *tinea pedis*, *tinea corporis*, *tinea cruris*, *tinea versicolor* y candidiasis cutánea responden bien a la aplicación local de cremas o polvos. La candidiasis vulvovaginal se puede tratar con óvulos o cremas vaginales. El clotrimazol también está disponible como trocisco oral para tratamiento del algodoncillo bucal y esofágico en los pacientes inmunocompetentes.

Otros antimicóticos tópicos

El tolnaftato y la naftifina son agentes tópicos antimicóticos empleados en el tratamiento de muchas infecciones por dermatófitos y *tinea versicolor*. Las formulaciones por cremas, polvos y aerosol. El ácido undecilénico se puede obtener en varias formulaciones para el tratamiento de la *tinea pedis* y la *tinea cruris*. Aunque es eficaz y bien tolerado, los azoles antimicóticos naftifina y tolnaftato son más efectivos. El haloprogin y el ciclopirox son otros agentes tópicos comúnmente empleados en las infecciones por dermatófitos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- ¿Cuál enunciado acerca de los hongos es correcto?
 - Todos los hongos pueden crecer como levaduras y mohos
 - Aunque los hongos son eucariontes, carecen de mitocondrias
 - Los hongos son fotosintéticos
 - Los hongos tienen uno o más núcleos y cromosomas
 - Pocos hongos poseen membranas celulares
- ¿Cuál afirmación acerca del crecimiento y la morfología de los hongos es correcta?
 - Todos las levaduras producen pseudohifas
 - Los mohos producen hifas que pueden ser particionadas o no con paredes cruzadas o septa
 - Los conidios se producen por reproducción sexual
 - La mayor parte de las levaduras se reproduce por gemación y carece de paredes celulares
 - La mayor parte de los mohos dimórficos patogénicos produce hifas en el huésped y levaduras a 30 °C
- ¿Cuál enunciado con respecto a las paredes celulares de los hongos es correcto?
 - Los componentes principales de las paredes celulares de los hongos son proteínas como chitina, glucanos y mananos
 - La pared celular no es esencial para la viabilidad o supervivencia de los hongos
 - Los ligandos relacionados con las paredes celulares de ciertos hongos median la unión con las células huésped
 - Los componentes de la pared celular de los hongos son los objetivos de las principales clases de antibióticos antimicóticos, como polienos y azoles
 - Los componentes de la pared celular de los hongos rara vez estimulan una respuesta inmune
- Un varón de 54 años de edad desarrolló una cefalea que empeora con lentitud la cual seguida por está debilidad progresiva en el brazo derecho. Un examen del cerebro revela una lesión cerebral izquierda. En la cirugía se encontró un absceso rodeado de material granulomatoso. En las secciones del tejido y el cultivo posterior se observaron hifas septadas con una pigmentación oscura que indican feohifomicosis. ¿Cuál especie de los siguientes géneros podría causar esta infección?
 - Aspergillus*
 - Cladophialophora*
 - Coccidioides*
 - Malassezia*
 - Sporothrix*
- Un varón de 35 años de edad es agricultor de un área tropical de África occidental. Ha desarrollado una pápula escamosa persistente en su pierna; 10 meses después

apareció un nuevo cultivo de lesiones escamosas púrpuras parecidas a las verrugas. Estas lesiones avanzaron de manera lenta para tomar una apariencia como de coliflor. Se le diagnosticó cromomycosis (cromoblastomicosis). ¿Cuál enunciado en relación con esta enfermedad es el más correcto?

- En tejido, los organismos se convierten en células esféricas que se reproducen por fisión y muestran septaciones transversales
 - Los agentes etiológicos son miembros endógenos de la flora de los mamíferos y poseen paredes celulares melaninizadas
 - Una sola especie causa la enfermedad
 - La mayor parte de las infecciones son sistémicas
 - La mayor parte de las infecciones son agudas y desaparecen de forma espontánea
- Un varón de 42 años de edad VIH positivo, originario de Vietnam pero que en la actualidad reside en Arizona, presenta una lesión ulcerativa dolorosa en el labio superior (cuelilitis). Se obtuvo una biopsia, y la placa histopatológica (tinción de hematoxilina y eosina) reveló estructuras esféricas (20 a 50 µm de diámetro) con paredes celulares refractarias gruesas. ¿Cuál es la enfermedad probable consistente con este hallazgo?
 - Infección con *Penicillium marneffei*
 - Criptococosis
 - Blastomicosis
 - Coccidiomicosis
 - Un varón de 47 años de edad con diabetes mellitus mal controlada presentó un flujo nasal sanguinolento, edema facial y necrosis del tabique nasal. El cultivo de las secreciones nasales grásicas produjo la especie *Rhizopus*. ¿Cuál es la implicación más importante de este hallazgo?
 - No hay valor diagnóstico, porque este moho es un contaminante llevado por el aire
 - Se debe considerar el tratamiento para mucormicosis rinocerebral (cigomicosis)
 - Muy sugerente de cetoacidosis
 - Muy sugerente de infección por VIH
 - El paciente se expuso a contaminación de moho en algún lugar cerrado
 - Un niño de ocho años de edad presenta una lesión seca circular, escamosa y pruriginosa. ¿Cuál es la importancia diagnóstica de observar ramificación, septos, hifas no pigmentadas en una preparación blanca de hidróxido de potasio-calcofluor de un raspado de esta lesión cutánea?
 - Cromomycosis
 - Dermatofitosis
 - Feohifomicosis
 - Esporotricosis
 - Ninguna importancia diagnóstica
 - ¿Qué enunciado en relación con la epidemiología de la candidiasis es correcto?
 - Los pacientes que reciben trasplante de médula ósea no tienen riesgo de candidiasis sistémica
 - Los pacientes con cantidades bajas de neutrófilos y monocitos no tienen riesgo de candidiasis sistémica
 - Los pacientes con cualquier forma de diabetes tienen mayor resistencia a candidiasis
 - Los pacientes con SIDA suelen manifestar candidiasis mucocutánea, como algodoncillo bucal
 - El embarazo disminuye el riesgo de vaginitis por *Candida*
 - ¿Qué enunciado en relación con la dermatofitosis es correcto?

- A. Las infecciones crónicas se relacionan con dermatofitos zoofílicos, como *Microsporium canis*
- B. Las infecciones agudas se relacionan con dermatofitos zoofílicos, como *Microsporium canis*
- C. Las infecciones crónicas se relacionan con dermatofitos antropofílicos, como *Microsporium canis*
- D. Las infecciones agudas se relacionan con dermatofitos antropofílicos, como *Microsporium canis*
11. ¿Cuál enunciado en relación con la identificación de laboratorio de hongos es correcto?
- A. *Histoplasma capsulatum* por lo común requiere menos de 48 h de incubación para producir cultivos positivos a partir de muestras clínicas
- B. Puesto que muchos mohos saprofílicos (no patógenos) se asemejan a agentes micóticos dimórficos en cultivo a 30 °C, la identificación de presuntos hongos patógenos dimórficos se debe confirmar por conversión a la forma tisular *in vitro* o por detección de antígenos específicos de la especie o secuencias de DNA
- C. Los mohos se diferencian de manera rutinaria mediante una batería de pruebas fisiológicas, como la capacidad para asimilar varios azúcares
- D. Una prueba positiva de tubo germinativo proporciona una supuesta identificación de *Candida tropicalis*
- E. Los hongos de levadura por gemación y pseudohifas abundantes son características de *Pneumocystis jirovecii*
12. Una trabajadora sexual de 28 años de edad del sur de California se queja de cefaleas, mareos y episodios ocasionales de "mirada perdida" durante las dos semanas pasadas. Una punción lumbar reveló baja concentración de glucosa, alta concentración de proteínas y 450 leucocitos mononucleares/mL. De acuerdo con las pruebas resultó ser positiva para infección por VIH. Su historia es compatible con meningitis micótica debida a *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis* o una especie de *Candida*. ¿Cuál de las pruebas siguientes es confirmatoria?
- A. La meningitis debida a *C. immitis* se confirmaría por medio de una prueba positiva del líquido cefalorraquídeo para antígeno capsular criptocócico
- B. La meningitis debida a *C. neoformans* se confirmaría por medio de una prueba positiva del líquido cefalorraquídeo para anticuerpos de fijación del complemento para coccidioidina
- C. La meningitis debida a especies de *Candida* se confirmaría mediante la observación microscópica de hongos de levadura ovales y pseudohifas en el LCR
- D. La meningitis debida a *C. immitis* se confirmaría mediante una prueba cutánea positiva para coccidioidina
13. ¿Cuál enunciado acerca de la feohifomicosis es correcto?
- A. La infección se presenta sólo en pacientes inmunocomprometidos
- B. El tejido infectado revela ramificación de hifas septadas no pigmentadas
- C. Los agentes causantes son miembros de la flora microbiana normal y se pueden aislar con facilidad de la piel y mucosa de personas saludables
- D. La feohifomicosis podría mostrar varias manifestaciones clínicas, entre otras, enfermedad subcutánea o sistémica, así como sinusitis
- E. Los casos raros responden al tratamiento con itraconazol
14. Un varón de 37 años de edad con SIDA, que actualmente vive en Indiana, presenta osteomielitis de la cadera izquierda. Se obtuvo una biopsia por punción de la médula espinal y el frotis blanco de calcofluor reveló una variedad de células mielógenas, monocitos y macrófagos que contienen gran cantidad de hongos de levadura intracelulares de forma elíptica y de aproximadamente $2 \times 4 \mu\text{m}$. ¿Cuál es el diagnóstico más probable?
- A. Blastomicosis
- B. Cañidiasis
- C. Criptococosis
- D. Histoplasmosis
- E. Ninguna importancia diagnóstica
15. El examen de hidróxido de potasio del esputo de un paciente con trasplante de corazón con fiebre e infiltrados pulmonares contiene hongos de levadura por gemación y pseudohifas. ¿Cuál es la importancia diagnóstica?
- A. Aspergilosis
- B. Candidiasis
- C. Hialohifomicosis
- D. Feohifomicosis
- E. Ninguna importancia diagnóstica
16. Un varón de mediana edad residente del sur de California recibió un trasplante de hígado. Durante los meses siguientes, poco a poco manifestó fatiga, pérdida de peso, tos, diaforesis nocturna, disnea y nódulos subcutáneos sin cicatrizar en la nariz. La radiografía de tórax reveló linfadenopatía hilar e infiltrados difusos. El examen directo y el cultivo de una muestra respiratoria resultaron negativos. Las pruebas cutáneas con PPD, blastomicina, coccidioidina e histoplasmina fueron negativas. Los resultados de las pruebas serológicas fueron los siguientes: 1) prueba sérica negativa para antígeno capsular criptocócico en la sangre; 2) prueba de inmunodifusión positiva para precipitinas séricas de antígeno micótico F y pruebas de inmunodifusión negativas para precipitinas de antígenos h, m y A, y 3) las pruebas séricas para anticuerpos micóticos de fijación del complemento resultaron negativas para *Blastomyces dermatitidis*, así como para antígenos miceliales y de levadura de *Histoplasma capsulatum*, pero produjeron un título de 1:32 para coccidioidina. ¿Qué interpretación de estos datos es la más defendible?
- A. Los hallazgos clínicos y serológicos no son concluyentes
- B. Los hallazgos clínicos y serológicos son más consistentes con la histoplasmosis diseminada activa
- C. Los hallazgos clínicos y serológicos son más consistentes con la blastomicosis diseminada activa
- D. Los hallazgos clínicos y serológicos son consistentes con la coccidioidomicosis diseminada activa
- E. Los hallazgos clínicos y serológicos excluyen un diagnóstico de blastomicosis, histoplasmosis y coccidioidomicosis
17. ¿Qué enunciado en relación con la aspergilosis es correcto?
- A. Los pacientes con aspergilosis broncopulmonar alérgica rara vez tienen eosinofilia
- B. Los pacientes que reciben corticosteroides parenterales no tienen riesgo de aspergilosis invasiva
- C. El diagnóstico de aspergilosis pulmonar suele establecerse mediante el cultivo de *Aspergillus* del esputo y la sangre
- D. Las manifestaciones clínicas de aspergilosis incluyen infecciones locales de oído, córnea, uñas y senos nasales

- E. Los receptores de trasplante de médula ósea no tienen riesgo de aspergilosis invasiva
18. ¿Cuál enunciado acerca de la esporotricosis es correcto?
- El agente etiológico más común es *Pseudallescheria boydii* (*Scedosporium apiospermum*)
 - El agente etiológico es un hongo dimórfico
 - Se desconoce la ecología del agente etiológico
 - La mayor parte de los casos son subcutáneos y no linfáticos
 - La mayor parte de los pacientes son inmunodeprimidos
19. Un trabajador inmigrante, de 24 años de edad, VIH negativo, originario de Colombia, presenta lesión ulcerativa dolorosa en la lengua. Se raspó con cuidado el borde de la lesión y el frotis de calcofluor hidróxido de potasio-blanco reveló células tisulares, fragmentos, varios hongos de levadura por gemación múltiple, grandes y esféricos. Con base en esta observación, ¿cuál es el diagnóstico más probable?
- Blastomycosis
 - Candidiasis
 - Coccidioidomycosis
 - Histoplasmosis
 - Paracoccidioidomycosis
20. ¿Cuál enunciado acerca de la blastomycosis es correcto?
- Del mismo modo que con otras micosis endémicas, esta infección se presenta por igual en varones y mujeres
 - La infección comienza en la piel, y los organismos se diseminan a los pulmones, huesos, tracto genitourinario u otros lugares
 - La enfermedad es endémica para ciertas áreas de América del Sur
 - En el tejido, se encuentran hongos de levadura por gemación simple, grandes y de pared gruesa, con conexiones amplias entre la levadura madre y el brote
 - Todos los casos requieren tratamiento con anfotericina B

Respuestas: 1 = D; 2 = B; 3 = C; 4 = B; 5 = A; 6 = D; 7 = B; 8 = B; 9 = D; 10 = B; 11 = B; 12 = C; 13 = D; 14 = D; 15 = E; 16 = D; 17 = D; 18 = B; 19 = E; 20 = D

GLOSARIO

Conidios: estructuras reproductivas asexuales (mitosporas) producidas por transformación de una levadura vegetativa o células hifales, o de células conidiógenas especializadas, que pueden ser simples o complejas y elaboradas. Los conidios pueden formarse sobre una hifa especializada denominada conidióforo. Los microconidios son pequeños, y los macroconidios de mayor tamaño o multicelulares.

Artroconidios (artrosporas): conidios resultantes de la fragmentación de las células hifales (p. ej., *Coccidioides immitis*, figura 45-15).

Basidiosporas: cuatro esporas comúnmente formadas después de la meiosis sobre la superficie de una estructura especializada, un basidio en forma de raqueta.

Clamidosporas (clamidoconidios): conidios grandes de pared gruesa, generalmente esféricos, produci-

dos a partir de células hifales terminales o intercalares (*Candida albicans*, figura 45-2).

Fialoconidios: conidios producidos por una célula conidiógena "en forma de jarrón", denominada fialide (p. ej., *Aspergillus fumigatus*, figura 45-9).

Espora: estructura especializada con mayor capacidad de supervivencia por su resistencia a las condiciones adversas o por las características que promueven su propagación. Las esporas pueden resultar de la reproducción asexual (p. ej., conidios, esporangiosporas) o sexual (véanse ascosporas, basidiosporas y cigosporas). Durante la reproducción sexual, las células haploides de cepas compatibles se aparean a través de un proceso de plasmogamia, cariogamia y meiosis.

Ascosporas: 4 a 8 esporas formadas dentro de las ascas (figura 45-1) después de la meiosis.

Blastoconidios (blastosporas): formación de conidios mediante un proceso de gemación (p. ej., levaduras, figura 45-1; *Cladosporium*, figura 45-7).

Cigosporas: luego de la meiosis se desarrolla un cigosporo grande de pared gruesa.

Esporangiosporas: estructuras asexuales características de los cigomicetos; son esporas mitóticas producidas dentro de un esporangio y con frecuencia sostenido éste por un esporangióforo.

Hifa: filamentos tubulares ramificados (2 a 10 µm de ancho) de células micóticas. La forma de crecimiento como moho. La mayor parte de las células hifales están separadas por paredes transversas porosas o septa, pero las hifas de los cigomicetos se caracterizan por su escasa tabicación. Las hifas vegetativas o de sustrato fijan la colonia y absorben los nutrientes. Las hifas aéreas se prolongan encima de la colonia y poseen las estructuras reproductivas.

Hongos dematiáceos: hongos cuyas paredes celulares contienen melanina y poseen un pigmento marrón a negro.

Hongos dimorfos: hongos que tienen dos formas de crecimiento, como moho y como levadura, las cuales se desarrollan según las diferentes condiciones de crecimiento (p. ej., *Blastomyces dermatitidis* forma hifas *in vitro* y levaduras en tejidos).

Hongos imperfectos: hongos incapaces de reproducción sexual: sólo están representados por un anamorfio, estado reproductivo asexual o mitótico. Se les identifica con base en las estructuras reproductivas asexuales (es decir, mitosporas).

Hongos perfectos: hongos capaces de reproducción sexual, constituyen el teleomorfo.

Levaduras: células fúngicas unicelulares, esféricas o elipsoides (3 a 15 µm) que se reproducen por gemación.

Micelio: masa o maraña de hifas, colonia de moho.

Moho: colonia hifal o micelial, o forma de crecimiento.

Septa: pared transversa de la hifa, típicamente perforada.

Seudohifas: cadenas alargadas de yemas o blastoconidios.

REFERENCIAS

General

- Ajello L, Hay RJ (editors): *Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections*, 9th ed. Volume 4: Medical Mycology. Arnold, 1998.
- Cohen J, Powderly WG (editors): *Infectious Disease*, 2nd ed. Volume 2, Chapter 237-241. Mosby, 2004.
- Kwon-Chung KJ, Bennett JE: *Medical Mycology*. Lea & Febiger, 1992.

Micosis cutáneas y subcutáneas

- Fothergill AW: Identification of dematiaceous fungi and their role in human disease. *Clin Infect Dis* 1996;22:S179.
- Kauffman CA, Hajeh RA, Chapman SW: Practice guidelines for the management of patients with sporotrichosis. *Clin Infect Dis* 2000;30:684.
- McGinnis MR, Fader RC: Mycetoma: a contemporary concept. *Infect Dis Clin North Am* 1995;2:939.
- Weitzman I, Summerbell RC: The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:240.

Micosis endémica

- Franco M *et al.* (editors): *Paracoccidioidomycosis*. CRC Press, 1994.
- Kirkland TN, Fierer J: Coccidioidomycosis: a reemerging infectious disease. *Emerg Infect Dis* 1996;2:192.
- Patel RG *et al.*: Clinical presentation, radiographic findings, and diagnostic methods of pulmonary blastomycosis: a review of 100 consecutive cases. *South Med J* 1999;92:289.
- Stevens DA: Current Concepts: coccidioidomycosis. *N Engl J Med* 1995;332:1077.
- Wheat LJ: Endemic mycoses in AIDS: a clinical review. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:146.
- Wheat LJ: Histoplasmosis: recognition and treatment. *Clin Infect Dis* 1994;19:S19.

Micosis oportunista

- Calderone RA (editor): *Candida and Candidiasis*. ASM Press, 2002.
- Casadevall A, Perfect JR: *Cryptococcus neoformans*. ASM Press, 1998.
- Denning DW: Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998;26:781.

- Ferguson BJ (editor): Fungal rhinosinusitis: a spectrum of disease. *Otolaryngol Clin North Am* 2000;33:1.
- Lee FY, Mossad SB, Adal KA: Pulmonary mucormycosis: the last 30 years. *Arch Intern Med* 1999;159:6.
- Lewis RE, Klepser ME: The changing face of nosocomial candidemia: epidemiology, resistance and drug therapy. *Am J Health Syst Pharm* 1999;56:3.
- Masur H: Prevention and treatment of pneumocystis pneumonia. *N Engl J Med* 1992;327:1853.
- Minamoto GY, Rosenberg AS: Fungal infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Med Clin North Am* 1997;81:381.
- Muler FM, Groll AH, Walsh TJ: Current approaches to diagnosis and treatment of fungal infections in children infected with human immunodeficiency virus. *Eur J Pediatr* 1999;158:187.
- Nucci M *et al.*: Risk factors for death among cancer patients with fungemia. *Clin Infect Dis* 1998;27:107.
- Patterson DL, Singh N: Invasive aspergillosis in transplant recipients. *Medicine (Baltimore)* 1997;78:123.
- Perfect JR, Schell WA: The new fungal opportunists are coming. *Clin Infect Dis* 1996;22:S112.
- Pfaller MA: Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. *Clin Infect Dis* 1996;22:S89.
- Revankar SG *et al.*: Disseminated phaeohyphomycosis: Review of an emerging mycosis. *Clin Infect Dis* 2002;34:467.
- Ribes JA, Vanover-Sam CL, Baker DJ: Zygomycetes in human disease. *Clin Microbiol Rev* 2000;23:236.
- Su TH, Martin WJ II: Pathogenesis and host response in *Pneumocystis carinii* pneumonia. *Annu Rev Med* 1994;45:261.

Quimioterapia antimicótica

- Gallagher JC *et al.*: Antifungal pharmacotherapy for invasive mould infections. *Exp Opin Pharmacother* 2003;4:147.
- Lortholary O, Denning DW, Dupont B: Endemic mycoses: a treatment update. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43:321.
- Sheehan DJ, Hitchcock CA, Sibley CM: Current and emerging azole antifungal agents. *Clin Microbiol Rev* 1999;12:40.
- Viscoli C, Castagnola E: Emerging fungal pathogens, drug resistance and the role of lipid formulations of amphotericin B in the treatment of fungal infections in cancer patients: a review. *Internat J Infect Dis* 1999;3:109.

SECCIÓN VI

Parasitología

Parasitología médica

Donald Heyneman, PhD*

Todos los microorganismos significativos desde el punto de vista médico considerados en este capítulo son parásitos en el huésped humano, pero la disciplina biomédica de la parasitología suele relacionarse sólo con protozoarios, helmintos y artrópodos parásitos. En este capítulo se ofrece una breve revisión de los protozoarios y helmintos parásitos de importancia médica. El texto se complementa con cuadros e ilustraciones.¹ Al final del capítulo se mencionan libros y artículos recomendados como referencia.

CLASIFICACIÓN DE LOS PARÁSITOS

En la actualidad, los parásitos del ser humano del reino *Protozoa* se clasifican bajo tres filos: *Sarcomastigophora* (incluye a los flagelados y amebas); *Apicomplexa* (incluye a los esporozoarios); y *Ciliophora* (incluye a los ciliados). En estos grandes grupos se encuentran los parásitos importantes del ser humano, listados de manera conveniente como subfilos.

- 1) **Mastigophora:** son flagelados, poseen uno o más flagelos semejantes a látigos y, en algunos casos, una membrana ondulante (p. ej., tripanosomas). Entre éstos se incluyen los flagelados intestinales y del aparato genitourinario (*Giardia*, *Trichomonas*, *Dientamoeba*, *Chilomastix*), así como los flagelados de la sangre y tejidos (*Tripanosoma*, *Leishmania*).
- 2) **Sarcodina:** por lo regular son ameboides y en el ser humano están representados por las especies *Entamoeba*, *Endolimax*, *Iodamoeba*, *Naegleria* y *Acanthamoeba*.

- 3) **Sporozoa:** poseen un ciclo biológico complejo con fases reproductivas alternantes sexuales y asexuales, suelen afectar a dos huéspedes diferentes (p. ej., artrópodos y vertebrados como formas en la sangre). La subclase *Coccidia* contiene los parásitos del ser humano *Isospora*, *Toxoplasma* y otros. Uno de éstos, el *Cryptosporidium*, se ha implicado como causante de diarrea intratable en huéspedes inmunodeficientes. Entre los *Haematozoa* (esporozoarios de la sangre) se encuentran los parásitos del paludismo (especies de *Plasmodium*) y la subclase *Piroplasmida*, que incluye las especies de *Babesia*. Recientemente se demostró que el *Pneumocystis* es un miembro de los hongos más que un protozoario: es otro parásito oportunista de personas inmunodeficientes.

- 4) **Ciliophora:** son protozoarios complejos que poseen cilios distribuidos en hileras o placas con dos tipos de núcleo en cada individuo. El *Balantidium coli* (un ciliado intestinal gigante de humanos y cerdos) es el único parásito del ser humano representativo de este grupo.

Un grupo característico, antes conocido como protozoario y con frecuencia agrupado dentro de los *Sporozoa*, se considera ahora un filo separado, el *Microspora*; incluye los microsporidios, observados como parásitos oportunistas del huésped inmunodeficiente.

Los gusanos o helmintos parásitos del ser humano pertenecen a dos filos:

- 1) **Platelmintos:** (gusanos aplanados) carecen de una verdadera cavidad corporal (celoma) y en un corte dorso-ventral típicamente son aplanados. Todas las especies importantes en medicina pertenecen a las clases *Cestoda* (gusanos acintados) y *Trematoda* (duelas o uncinarias). Los cestodos de humanos son acintados y segmentados. Por lo regular, las uncinarias tienen forma de hoja, y los esquistosomas, estrecha y alargada, adaptación que junto con su condición de sexos separados les permite alojarse en vasos sanguíneos de pequeño calibre. Otras uncinarias y los cestodos de humanos son hermafroditas. En humanos, los cestodos importantes de los tejidos y del intestino pertenecen a

*Profesor Emérito de Parasitología del Departamento de Epidemiología y Salud Internacional de la Universidad de California, San Francisco. Presidente Emérito del Programa Médico Conjunto, Berkeley-Universidad de California, Universidad de California, San Francisco.

¹Las ilustraciones de este capítulo fueron preparadas por el fallecido P. H. Vercammen-Grandjean, DSc.

los géneros *Diphyllobothrium*, *Spirometra*, *Taenia*, *Echinococcus*, *Hymenolepis* y *Dipylidium*. Los parásitos importantes en medicina del género trematodos incluyen *Schistosoma*, *Paragonimus*, *Clonorchis*, *Opisthorchis*, *Heterophyes*, *Metagonimus*, *Fasciolopsis* y *Fasciola*.

- 2) **Nematelmintos:** (gusanos vermiformes, sexos separados, gusanos redondos no segmentados) incluye muchas especies de parásitos que infectan a los humanos.

En el cuadro 46-4 se presenta una lista con otros helmintos parásitos. Un procedimiento fundamental en el diagnóstico de muchas infecciones helmínticas es identificar mediante examen microscópico, huevecillos o larvas en heces, orina, sangre o tejidos. En las secciones apropiadas del texto se encuentran ilustraciones de las etapas importantes desde el punto de vista del diagnóstico; en el cuadro 46-5 se mencionan las características importantes de las microfilarias.

FLAGELADOS INTESTINALES

GIARDIA LAMBLIA

Giardia lamblia, un flagelado, es el único protozoario patógeno común encontrado en el duodeno y yeyuno de los humanos; causa giardiasis.

Giardia duodenalis es otro nombre comúnmente asignado al parásito que causa giardiasis humana; el término *Giardia intestinalis* se emplea con frecuencia en Europa, y *Lamblia intestinalis*, en la antigua Unión Soviética. Gran parte de la confusión se debe a la mezcla de nombres de especies ahora que la giardiasis se reconoce como una zoonosis y las especies basadas en un supuesto parasitismo de un solo huésped se han hecho sinónimos (véase Epidemiología). En tanto se aclara la taxonomía, se retiene el nombre *G. lamblia* de las especies primeramente descritas.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

El trofozoito de *G. lamblia* es un microorganismo simétrico en forma de corazón, de 10 a 20 μm de longitud (figura 46-1). Tiene cuatro pares de flagelos, dos núcleos con cariomasas centrales prominentes y dos axostilos (órganos de soporte con aspecto de bastones). Un gran disco suctor en la porción anterior ocupa gran parte de la superficie ventral. En preparaciones en fresco es inconfundible el movimiento ondulatorio o a saltos de los trofozoitos de giardia. Los parásitos pasan al colon donde suelen enquistarse. Los quistes aparecen en las heces—casi siempre en grandes cantidades—. Poseen pared gruesa y muy resistente de 8 a 14 μm de longitud y de forma elipsoide, tienen dos núcleos cuando son quistes inmaduros y cuatro cuando maduran.

B. Cultivo

El cultivo, aunque posible, no tiene utilidad diagnóstica.

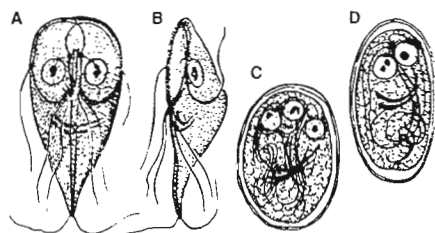


Figura 46-1. *Giardia lamblia*. A: "cara" y B: "perfil" de las formas vegetativas; C y D: quistes (binucleado [C] y etapa cuatrinucleada [D] (2 000 x)).

Patogenia y datos clínicos

G. lamblia en general sólo es débilmente patógeno para los humanos. Se pueden encontrar quistes en gran cantidad en heces de personas completamente asintomáticas. Sin embargo, en algunas personas, los abundantes parásitos fijos a la pared intestinal pueden causar irritación e inflamación de poca intensidad en las mucosas duodenal o yeyunal, con la consecuente diarrea aguda o crónica acompañada de hipertrofia de las criptas, atrofia o aplanamiento de las vellosidades y daño a las células epiteliales. A veces, las heces son acuosas o semisólidas, grasosas, voluminosas y fétidas en diferentes momentos durante el curso de la infección. Pueden presentarse malestar, debilidad, pérdida de peso, distensión, cólicos abdominales y flatulencia. Los niños son más susceptibles a la giardiasis clínica que los adultos. Las personas inmunodeficientes se encuentran en especial riesgo de infección masiva con manifestaciones clínicas graves. Los síntomas pueden prolongarse durante mucho tiempo.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

El diagnóstico depende del hallazgo de quistes característicos en las heces formadas, o de quistes y trofozoitos en las heces líquidas. El análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) en las heces ha demostrado ser una herramienta diagnóstica rápida sensible y específica (Seradyn® Color Vue-Giardia; Laboratorios LMD). A veces se requiere examen del contenido duodenal para establecer el diagnóstico, puesto que la producción de quistes puede ser esporádica y éstos no se encuentran en las heces cuando se practica un examen del frotis fecal en búsqueda de huevecillos y parásitos. Por tanto, se recomienda una serie de tres o más exámenes en días alternos, ya que los trofozoitos (estado vegetativo) se adhieren a las vellosidades por sus discos succionadores. La aspiración duodenal o la técnica con cápsula duodenal (Entero-Test) puede ser superior al examen fecal para el diagnóstico.

Tratamiento

El metronidazol elimina más de 90% de las infecciones causadas por *G. lamblia*. El clorhidrato de quinacina (Atabrine®)

vía oral y la furazolidona (Furoxona®) son fármacos alternos. El tinidazol (Fasigyn®) empleado para tratamiento de un día es muy eficaz y se utiliza ampliamente, pero no está disponible en EUA. La paromomicina (Humatin®) puede ser útil en embarazadas.

Si es necesario puede repetirse el tratamiento. Sólo los pacientes con síntomas requieren tratamiento.

Epidemiología

G. lamblia se encuentra en todo el mundo. El humano se infecta por ingerir agua o alimentos contaminados con heces que contienen quistes de giardia o por contaminación fecal directa, como puede pasar en guarderías para niños, campos para refugiados, instituciones o entre homosexuales masculinos. En EUA se han informado brotes epidémicos en centros de esquí, donde la sobrecarga del sistema de alcantarillado o la contaminación del suministro de agua han producido brotes súbitos de giardiasis. Los quistes pueden sobrevivir en el agua hasta por tres meses. Los brotes entre personas que acampan en regiones silvestres sugieren que los humanos pueden infectarse con giardias albergadas en roedores, venados, ganado bovino, ovejas, caballos o animales domésticos. Esto indica que la infección humana también puede ser una zoonosis y que *G. lamblia* tiene una amplia variedad de huéspedes, contrario a lo que se pensó antes. Hay una variabilidad extensa en el complejo giardia, y aunque todavía no se definen las especies, es claro que existe un gran número de clonas distintas y tal vez variables.

TRICHOMONAS

Las tricomonas son protozoarios flagelados con 3 a 5 flagelos anteriores, otros organelos y una membrana ondulante. *Trichomonas vaginalis* causa la forma más común de tricomoniasis en humanos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

La *T. vaginalis* tiene forma de pera, con una corta membrana ondulante limitada por un flagelo y cuatro flagelos de-

lanteros (figura 46-2). Mide $10 \times 7 \mu\text{m}$, aunque su longitud puede variar entre 5 y $30 \mu\text{m}$ y su anchura es de 2 a $14 \mu\text{m}$. El microorganismo se desplaza con movimientos bamboleantes y de rotación característicos. Las tricomonas no patógenas, *Trichomonas hominis* (figura 46-3) y *Trichomonas tenax*, no pueden distinguirse con facilidad de la *T. vaginalis* cuando están vivas. Para todo propósito práctico, las tricomonas encontradas en la boca son *T. tenax*; en el intestino, *T. hominis*; y en el aparato genitourinario (de ambos sexos), *T. vaginalis*.

B. Cultivo

La *T. vaginalis* puede cultivarse en muchos medios sólidos y líquidos libres de células, en cultivo de tejidos y en embrión de pollo. El suero con tripticasa simplificado suele usarse para el cultivo del semen.

C. Requisitos para el crecimiento

La *T. vaginalis* crece mejor entre 35 a 37 °C en condiciones anaeróbicas, y de manera menos satisfactoria en condiciones aeróbicas. El pH óptimo para el crecimiento *in vitro* (5.5 a 6.0) indica la razón por la cual la tricomoniasis vaginal es más grave en mujeres con pH vaginal superior al normal.

Patogenia, patología y datos clínicos

En general, las *T. hominis* y *T. tenax* se consideran comensales inoocuos. La *T. vaginalis* puede producir inflamación moderada. La intensidad de la infección, el pH y el estado fisiológico de las superficies vaginales y otras del aparato genitourinario, así como la flora bacteriana acompañante, son algunos factores que afectan la patogenicidad. Los microorganismos no sobreviven a la acidez normal de la vagina cuyo pH es 3.8 a 4.4.

En mujeres, por lo general la infección se limita a vulva, vagina y cuello uterino; no suele extenderse al útero. Las superficies mucosas pueden estar hipersensibles, inflamadas, erosionadas y cubiertas con una secreción espumosa amarillenta o de color crema. En hombres pueden infectarse próstata, vesículas seminales y uretra. En las mujeres, los signos y síntomas, además de la secreción vaginal profusa, incluyen dolor local, prurito vulvar y sensación de quemadura. Casi 10% de las mujeres infectadas presenta secreción uretral fluida y blanquecina.

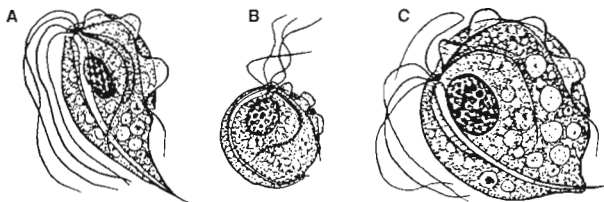


Figura 46-2. *Trichomonas vaginalis* (encontrada en las secreciones vaginal y prostática). A: trofozoito normal; B: forma redonda después de la división; C: forma común observada en preparaciones teñidas. Nótese que la membrana ondulante sólo se extiende dos tercios de la longitud del parásito, no en su longitud total como en las otras tricomonas de humanos. No se encuentran quistes. (2 000 x)

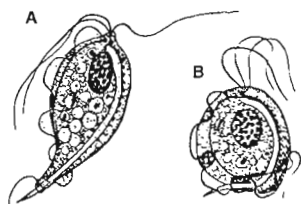


Figura 46-3. *Trichomonas hominis*. A: forma normal y B: forma redonda de los trofozoitos, probablemente un artefacto de la tinción. No se encuentran quistes. (2 000 x)

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras y examen microscópico

Las secreciones vaginales o uretrales deben examinarse en el microscopio en una gota de solución salina en busca de tricomonas motiles características. Los frotis secos pueden teñirse con hematoxilina u otros colorantes para su estudio posterior.

B. Cultivo

El cultivo de las secreciones vaginal, uretral, prostática o de una muestra de semen puede revelar los microorganismos cuando el examen directo es negativo.

Inmunidad

La infección no confiere inmunidad aparente, aunque en mujeres las reinfecciones parecen causar síntomas menos graves con el tiempo, lo cual sugiere el desarrollo de cierta resistencia.

Tratamiento

El tratamiento satisfactorio de la infección vaginal requiere destruir las tricomonas, para ello lo mejor es el metronidazol tópico y sistémico (Flagyl®). El tinidazol y el ornidazol (Tiberal®) son igualmente eficaces y con menos efectos adversos, pero no están disponibles en EUA. Se debe examinar y tratar de manera simultánea a la pareja sexual del paciente. Las pacientes posmenopáusicas a veces requieren tratamiento con estrógenos para mejorar el estado del epitelio vaginal. La infección prostática sólo puede curarse con certeza mediante tratamiento sistémico con metronidazol o uno de los nitroimidazoles mencionados antes.

Epidemiología y control

La *T. vaginalis* es un parásito común en hombres y mujeres. La tasa de infección varía mucho, pero pueden ser muy alta (40% o mayor). La transmisión se lleva a cabo durante el acto sexual, pero toallas, equipo de ducha, instrumentos

de exploración y otros objetos contaminados pueden causar algunas infecciones nuevas. Los lactantes pueden infectarse durante el parto. La mayor parte de las infecciones, en ambos sexos, son asintomáticas o leves. El control de las infecciones por *T. vaginalis* siempre requiere tratamiento simultáneo de ambos miembros de la pareja sexual. Es necesario emplear protección mecánica (condón) durante el coito mientras se erradica la infección en la pareja.

OTROS FLAGELADOS INTESTINALES

Dientamoeba fragilis

Clasificada desde hace mucho tiempo como ameba, este microorganismo ocasionalmente patógeno se reconoce ahora como ameboflagelado del mismo orden de las tricomonas. En su etapa de ameba mide 4 a 18 μm , posee 1 o 2 núcleos, y con frecuencia es bilobulado o en forma de frijol (figura 46-4). Comúnmente se encuentra en el colon humano junto con amebas verdaderas, pero contiene una estructura flagelar (cuerpo parabasal) cerca de los núcleos, y al igual que las tricomonas, carece de una etapa quística. La *Dientamoeba fragilis* es un parásito del humano, pero se ha encontrado en monos, homínidos y también en ovejas. Es poco patógena en casi 25% de las personas infectadas; puede ocasionar dolor abdominal, flatulencia, diarrea, vómito, debilidad y pérdida de peso, similar a lo que pasa en la giardiasis. El tratamiento es igual al de la infección por *Entamoeba histolytica*. En la sección de amebiasis se incluye la manera de distinguir a las amebas intestinales según sus diferencias morfológicas.

Chilomastix mesnili

En el laboratorio, este parásito puede confundirse con tricomonas. Se encuentra en todo el mundo. El trofozoito es piriforme y recuerda las tricomonas, pero el movimiento espiral del trofozoito es diferente al de las tricomonas. Los

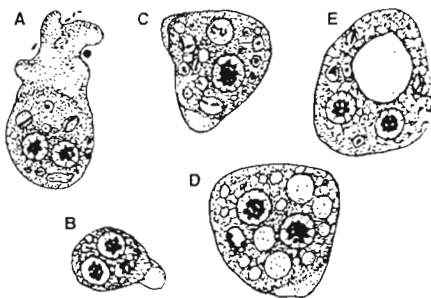


Figura 46-4. *Dientamoeba fragilis*. Trofozoitos (no se encuentran quistes). A: activa, B: pequeña, C: mononuclear, D y E: en reposo. (2 000 x)

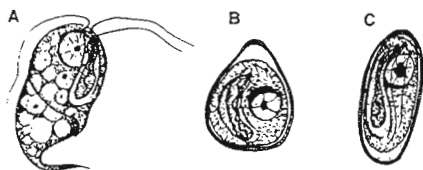


Figura 46-5. *Chilomastix mesnili*. A: trofozoito; B y C: quistes. 2 000 x

quistes tienen forma de limón, son uninucleados, y miden de 7 a 10 µm de longitud (figura 46-5).

HEMOFLAGELADOS

Los hemoflagelados del ser humano incluyen los géneros *Trypanosoma* y *Leishmania*. Existen dos tipos distintos de tripanosoma del humano: 1) africano, que causa la enfermedad del sueño y es transmitido por la mosca tse-tse (*Glossina*; *Trypanosoma brucei rhodesiense* y *Trypanosoma brucei gambiense*; y 2) americano, causante de la enfermedad de Chagas y transmitido por chinches de nariz coniforme (*Triatoma*, etc.); *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. El género *Leishmania*, se divide en varias especies que causan en el hombre leishmaniasis cutánea (úlcera oriental), mucocutánea (espundia) y visceral (kala-azar). Todas estas infecciones son transmitidas por moscas (*Phlebotomus*, en el viejo mundo y *Lutzomyia* y *Psychodopygus*, en el Nuevo Mundo).

El género *Trypanosoma* adopta en la sangre la forma de tripomastigotes de cuerpo alargado, que da apoyo a una membrana ondulante longitudinal lateral y a un flagelo que bordea el extremo libre de la membrana y surge en el extremo anterior como una prolongación en forma de látigo. El cinetoplasto es un cuerpo teñido de color oscuro situado inmediatamente junto al nodo delgado (blefaroblasto) del cual se origina el flagelo. Los hemoflagelados se desarrollan en otras formas, las cuales incluyen: 1) una leishmania redonda en su etapa intracelular, el amastigote; 2) una etapa extracelular flagelada, el promastigote, una forma lanceolada sin membrana ondulante y con un cinetoplasto en el extremo anterior; y 3) un epimastigote, una etapa extracelular más alargada con una membrana ondulante corta y un cinetoplasto colocado hacia atrás, cerca del núcleo.

En el ciclo biológico de la *Leishmania* sólo se encuentran el amastigote y el promastigote, este último se restringe al insecto vector. En el *T. cruzi*, las tres etapas del desarrollo pueden presentarse en el humano, y el tripomastigote y el epimastigote, en el vector. En los tripanosomas africanos, las últimas dos etapas flageladas también pueden presentarse en el vector, la mosca tse-tse, pero en humanos, sólo el tripomastigote.

LEISHMANIA

El género *Leishmania*, ampliamente distribuido en la naturaleza, incluye algunas especies prácticamente idénticas desde el punto de vista morfológico. Por tanto, la diferenciación se basa en algunos criterios bioquímicos y epidemiológicos: perfil electroforético de motilidad de una batería de isoenzimas (patrón cimodemo); serotipificación del factor excretorio; análisis de restricción del DNA del cinetoplasto (esquizodemo); patrones de conjugación de lectina sobre la superficie del parásito; empleo de sondas monoclonales para detectar antígenos específicos; patrones de crecimiento *in vitro* del promastigote en presencia de antisuero; características del desarrollo de promastigotes en la mosca vector específico; vectores, huésped reservorio y otros factores epidemiológicos. Las características clínicas de la enfermedad producida son típicamente diferenciadoras, pero en la actualidad se reconocen muchas excepciones (véase después). La leishmaniasis visceral se produce por la infección con miembros del complejo *Leishmania donovani*, que incluye muchas especies o subespecies diferentes. Todas las formas del Nuevo Mundo se transmiten por moscas del género *Lutzomyia*; y las leishmanias del Viejo Mundo, por moscas del género *Phlebotomus*. Las diferentes leishmanias poseen una variedad de características clínicas y epidemiológicas que sólo por conveniencia se agrupan en tres grupos clínicos: 1) leishmaniasis visceral (kala-azar), 2) leishmaniasis cutánea (úlcera oriental, furúnculo de Bagdad, úlcera cutánea húmeda, úlcera cutánea seca, úlcera del chichero, uta y otros nombres); y 3) leishmaniasis mucocutánea o naso-bucal (espundia). Sin embargo, algunas especies pueden inducir varios síndromes (p. ej., leishmaniasis visceral por uno de los agentes de la leishmaniasis cutánea o leishmaniasis cutánea por el agente de la leishmaniasis visceral). De manera similar, agentes diferentes pueden causar el mismo cuadro clínico.

Morfología e identificación

A. Microorganismo típico

En mamíferos sólo se observa el amastigote no flagelado intracelular (cuerpo de Leishman-Donovan [LD]) (figura 46-6). El promastigote infectante se transmite mediante la picadura de la mosca. Después de ser fagocitados por macrófagos, los promastigotes se transforman con rapidez en amastigotes y después se multiplican y llenan el citoplasma del macrófago. Las células infectadas estallan y los parásitos liberados vuelven a ser fagocitados y el proceso se repite para producir una lesión cutánea o infección visceral, según la especie del parásito y la respuesta del huésped. Los amastigotes son ovales, 2 a 6 × 1 a 3 µm, con un núcleo vesicular oval colocado de manera lateral y un cinetoplasto en forma de bastón, teñido de color oscuro.

B. Cultivo y características de crecimiento

En medio NNN (Nevy-Nicolle-MacNeal) o de Tio sólo se encuentran promastigotes. *L. donovani* suele crecer con lentitud y los promastigotes forman grumos desordenados en el líquido. *L. tropica* crece con mayor rapidez y los promastigotes forman en el líquido pequeñas rosetas unidas por su-

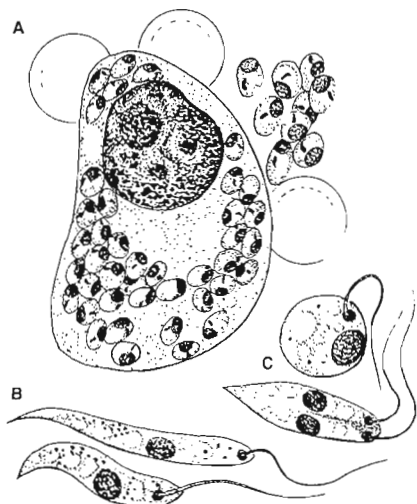


Figura 46-6. *Leishmania donovani*. A: célula reticuloendotelial grande del bazo con amastigotes. B: promastigote según se observa en el intestino de la mosca flebótomo o en cultivo. C: forma en división. (2 000 x) (Los dobles círculos sencillos representan el tamaño de los eritrocitos.)

flagelos, en tanto que *L. braziliensis* es capaz de producir una superficie como de cera con un menor número de promastigotes más pequeños. Por el contrario, *L. mexicana* produce microorganismos grandes de crecimiento rápido en medio de agar sangre simple. En cultivo de tejido pueden aparecer amastigotes intracelulares además de los promastigotes extracelulares.

C. Variaciones

Existen diferencias en virulencia, tropismo tisular y características biológicas y epidemiológicas, según la cepa, así como de los criterios serológicos y bioquímicos antes mencionados. Las especies del Nuevo Mundo (o subespecies) de leishmaniasis cutánea y mucocutánea se han colocado en los complejos *L. mexicana* y *L. braziliensis*, respectivamente, y los agentes de la leishmaniasis visceral se colocan en el complejo *L. donovani* como especies (o subespecies) geográficamente distintas.

Patogenia, patología y datos clínicos

La *L. donovani*, causante del kala-azar, se disemina desde el sitio de inoculación para multiplicarse en células reticuloendoteliales, en especial macrófagos del bazo, hígado, ganglios linfáticos y médula ósea. Esto se acompaña de hiperplasia notable del bazo. La emaciación progresiva se acompaña de debilidad cada vez mayor. Hay fiebre irregular, a veces hética. Los casos no tratados con síntomas de

kala-azar suelen ser mortales. Algunas formas, sobre todo en la India, desarrollan un resurgimiento cutáneo florido con abundantes parásitos en las vesículas cutáneas (post-kala-azar dérmico leishmanioide) 1 a 2 años después de la curación.

L. tropica, *L. major*, *L. mexicana*, *L. braziliensis* y otras formas dermatrópicas inducen una lesión dérmica en el sitio de inoculación por la mosca: leishmaniasis cutánea, úlcera oriental, furúnculo de Delhi, etc. Las mucosas pocas veces son afectadas. Las capas dérmicas son las primeras afectadas con infiltración celular y proliferación de amastigotes dentro de las células y diseminación extracelular, hasta que la infección penetra la epidermis y causa úlcera. Se pueden encontrar lesiones satélites (hipersensibilidad o leishmaniasis cutánea de tipo recidivante) cuyo contenido de parásitos es escaso o nulo, no siempre responden al tratamiento, e inducen una reacción cicatrizal fuertemente granulomatosa. En Venezuela se conoce una forma cutánea diseminada causada por la *L. mexicana* *pifanoi*. En Etiopía, una forma denominada *L. aethiopica* causa una leishmaniasis cutánea similar: no ulcerosa con formación de vesículas propagantes. Ambas formas son típicamente anérgicas y no reactivas a pruebas cutáneas de antígenos, y contienen un gran número de parásitos en las vesículas dérmicas.

En la sudamérica amazónica, la *L. braziliensis* *braziliensis* causa leishmaniasis mucocutánea o nasofaríngea. Se le conoce con muchos nombres locales. Las lesiones son de crecimiento lento pero extensas (en ocasiones 5 a 10 cm). Al parecer, hay diseminación rápida desde estos sitios a las superficies mucosas nasofaríngea o palatina, donde durante años no hay crecimiento adicional. Después de meses o hasta 2 años aparecen erosiones que avanzan continuamente para destruir el tabique nasal y la región circundante, siguiendo un curso fungoide y polipoide casi siempre intratable. En estos casos, la muerte se presenta por asfixia debida al bloqueo de la tráquea, inanición o infección respiratoria. Este es el cuadro clínico típico de la espundia, más comúnmente observado en la cuenca amazónica. En las alturas del Perú las características clínicas (uta) recuerdan la úlcera oriental. La infección por la *L. braziliensis* *guyanensis* con frecuencia se disemina a lo largo de las vías linfáticas, donde aparece como una cadena lineal de lesiones no ulcerosas. La infección por *L. mexicana* se restringe más típicamente a la lesión ulcerosa única, indolora, que cicatriza aproximadamente en un año dejando una cicatriz circular hundida característica. En México y Guatemala, las orejas están frecuentemente afectadas (úlceras de los chichleros) por una infección que ataca el cartilago sin ulceración y con pocos parásitos.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

El aspirado de ganglio linfático, el raspado y la biopsia de borde de la lesión (no del centro) son importantes en las formas cutáneas; el aspirado de ganglios linfáticos, sangre y punción del bazo, hígado y médula ósea son importantes en el kala-azar. La secreción purulenta no tiene valor para el diagnóstico, aunque el raspado nasal puede ser útil. Se ha estudiado un análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) utilizando un antígeno de 70-kDa como prueba de campo rápida y precisa para detectar leishmaniasis visceral.

(en lugar de la aspiración esplénica o de la prueba de aglutinación directa [DAT], que permanece positiva por algunos años después de la curación, lo cual es una desventaja para el diagnóstico del caso presente).

B. Examen microscópico

Los frotis y cortes teñidos con Giemsa pueden mostrar amastigotes, sobre todo en material del kala-azar y bajo los bordes retraídos de las úlceras cutáneas.

C. Cultivo

El medio NNN se utiliza con más frecuencia. Un cultivo difásico en agar sangre de conejo, medio de Tobie, a 26 a 28 °C es adecuado. El hemocultivo es satisfactorio para las *L. donovani* y *L. braziliensis*. El material aspirado de ganglios linfáticos es adecuado para todas las formas; y el aspirado de tejidos, material de biopsia, raspados, o la biopsia mínima del borde de las úlceras, son útiles para las formas cutáneas y con frecuencia también del kala-azar. Sin embargo, los promastigotes sólo pueden cultivarse en ausencia de células vivas.

D. Serología

La prueba de Napier en gel-formol (aldehído) es una prueba inespecífica para detectar aumento de las concentraciones de globulina sérica en el kala-azar. La prueba de IHA (hemaglutinación indirecta de anticuerpos) o la prueba IFA (prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes) pueden ser útiles, pero carecen de suficiente sensibilidad y pueden presentar reacción cruzada con el *T. cruzi*. Como ya se indicó, la prueba de ELISA es prometedora, y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), sobre todo cuando se combina con la prueba *Southern*, tiene especial interés. Ambas pruebas tienen sensibilidad y especificidad grandes. Evitan la necesidad de métodos diagnósticos invasores, como las punciones del bazo o médula ósea, los cuales son procedimientos dolorosos y potencialmente peligrosos. Una prueba cutánea (prueba de Montenegro) tiene importancia epidemiológica para indicar exposición pasada a cualquier leishmania.

Inmunidad

La recuperación de una leishmaniasis cutánea confiere inmunidad sólida y permanente, aunque por lo general es específica de especie y también puede ser específica de cepa. La resistencia natural varía mucho entre las personas, según el sexo y la edad. La vacunación con un inóculo vivo recién aislado de cultivo reduce de manera significativa la incidencia de la úlcera oriental.

Se puede desarrollar inmunidad al kala-azar, pero varía con el tiempo de tratamiento y las condiciones del paciente.

Tratamiento

Lesiones solitarias se pueden lavar, raspar y tratar con antibióticos si presentan infección secundaria, y luego se cubren y dejan cicatrizar. Para las formas más extendidas o no cicatrizantes, el fármaco de elección es el gluconato sódico pentavalente de antimonio (Pentostam[®], Solustibisan[®]). El

isetionato de pentamidina (Lomidina[®]), seguido por un ciclo de antimonio o de interferón gamma humano recombinante más antimonio, a veces es útil para el kala-azar resistente al gluconato sódico de antimonio. El pamoato cicloguanilo en aceite (Camolar[®]) y la anfotericina B (Fungizona[®]) pueden emplearse para la espondia, que casi siempre responde muy poco al tratamiento. El calor local mediante compresas de agua caliente (39 a 42 °C) aplicado directamente durante 20 a 30 min/día durante 12 a 30 días, o por exposición a radiaciones ultravioleta o infrarroja durante 20 min/día, puede ser eficaz contra la forma recidivante que no responde de la infección causada por la *m. L. tropica*. La administración diaria de ketoconazol (Nizoral[®]) durante 4 a 8 semanas también se ha empleado con éxito contra la leishmaniasis cutánea.

Epidemiología, prevención y control

En la mayor parte de los países tropicales y subtropicales se encuentran focos de kala-azar causado por la *L. donovani*. Su distribución local se vincula con la prevalencia de las moscas vectores específicas. En el litoral del Mediterráneo, en el continente asiático y Sudamérica, los cánidos domésticos y salvajes son los reservorios, y en Sudán varios carnívoros y roedores salvajes son reservorios del kala-azar endémico. No se ha encontrado reservorio animal alguno para las formas de la enfermedad en la India y Kenia. El control se orienta a destruir los sitios donde se crían perros, cuando es apropiado, y proteger a las personas de las picaduras de moscas. La úlcera oriental se presenta principalmente en la región del Mediterráneo, norte de África y Medio Oriente. El tipo "húmedo", causado por la *L. major*, es rural y el principal reservorio son las madrigueras de roedores; el tipo "seco", causado por la *L. tropica*, es urbano y presuntamente los humanos son el único reservorio. Para la *L. braziliensis* existen algunos animales salvajes reservorios, pero aparentemente no animales domésticos. Los moscas vectores están implicadas en todas las formas de la enfermedad.

TRIPANOSOMA

Los hemoflagelados del género *Trypanosoma* se presentan en la sangre de mamíferos como tripomastigotes alargados maduros. Una etapa de multiplicación del epimastigote precede a la formación de tripomastigotes infectantes en el huésped intermediario (un insecto vector) en todas las especies de tripanosomas que infectan a humanos. La tripanosomiasis se denomina como enfermedad africana del sueño; enfermedad de Chagas del sur de EUA, México y América central y del sur; y la tripanosomiasis asintomática en Centro y Sudamérica.

En África, la forma causal es el *Trypanosoma brucei* *brucei*, que causa nagana en el ganado bovino y en los animales de caza; las dos formas humanas son el *T. brucei* *rhodesiense* y el *T. brucei* *gambiense*. Las tres formas son indistinguibles desde el punto vista morfológico, pero difieren en los aspectos bioquímico, ecológico y epidemiológico.



Figura 46-7. *Trypanosoma brucei gambiense* (o *Trypanosoma brucei rhodesiense*, indistinguibles en la práctica). A, B: tripomastigotes en la sangre; C: epimastigote (tipo intermedio; el cinetoplasto aún no se encuentra delante del núcleo) se encuentra en la mosca tse-tse, especies de *Glossina*. (1 700 ×)

Morfología e identificación

A. Organismos típicos

El *T. b. gambiense* y el *T. b. rhodesiense* africanos varían en tamaño y forma del cuerpo, así como en longitud de los flagelos (habitualmente 15 a 30 µm), pero prácticamente son indistinguibles (figura 46-7). Una forma corta a manera de "muñón" es infectante para el huésped insecto y posee una batería completa de enzimas para el metabolismo energético. La estructura alargada requiere asistencia metabólica del huésped y está especializada para su multiplicación rápida en el torrente sanguíneo nutritivo de los vertebrados. Las mismas formas se observan en sangre y material aspirado de un ganglio linfático.

Las formas sanguíneas del *T. cruzi* americano (figura 46-8) se presentan durante la etapa aguda inicial y después a intervalos en menor cantidad. Son tripomastigotes típicos y su tamaño varía, pero es de 20 µm en promedio; con frecuencia se curvan en forma de C cuando se les fija y tiñe. En preparaciones teñidas es característico un cinetoplasto terminal grande y redondeado. Las formas tisulares, más comunes en músculo cardíaco, hígado y cerebro, se desarrollan a partir de amastigotes que se multiplican para formar una colonia intracelular después de invadir la célula huésped o ser fagocitado el parásito. El *Trypanosoma rangeli* de Centro y Sudamérica infecta a los humanos sin causar enfermedad y, por tanto, debe distinguirse cuidadosamente de las especies patógenas (cuadro 46-1).

B. Cultivo

El *T. cruzi* y el *T. rangeli* son fáciles de cultivar (3 a 6 semanas) en la forma de epimastigote en medio líquido o difásico. El diagnóstico de pacientes en la fase hematogena temprana de la infección puede facilitarse al utilizar la capacidad de multiplicación de parásitos criados en el laboratorio, en insectos vectores limpios (chinche besucona, de nariz conforme o triatomina) después de permitirles alimentarse de sangre del paciente (véase Xenodiagnóstico después).

C. Variación

Existen variaciones en morfología (véase antes), virulencia y constitución antigénica. Los tripanosomas africanos del complejo *T. brucei* son notables porque desarrollan una serie de cubiertas antigénicas con glucoproteínas controladas genéticamente (glucoproteínas variantes de superficie, o VSG). Los parásitos de cada descarga sucesiva en el torrente sanguíneo del huésped están revestidos por una cubierta distinta, en número aparentemente ilimitado. Este proceso se debe a cambios inducidos genéticamente en el desarrollo de las glucoproteínas superficiales de la cubierta; la producción de membranas antigénicamente diferentes se considera un medio de escape continuo a la respuesta de anticuerpos del huésped. Cada población se reduce, pero se reemplaza con prontitud por otro tipo antigénico antes que la precedente se elimine. Se cree que cada tripanosoma posee cerca de 1 000 genes VSG (del inglés *variant surface glycoprotein*), un ejemplo de la formación del mosaico genético.

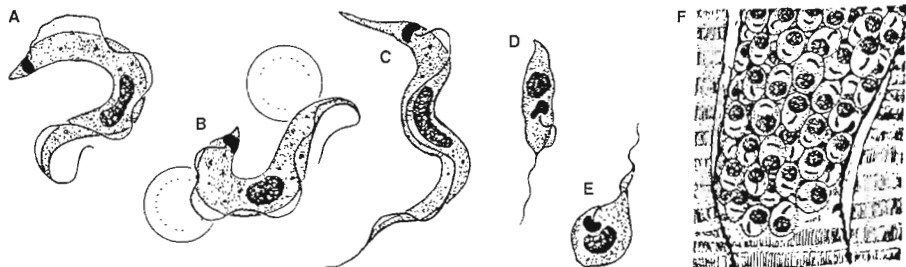


Figura 46-8. *Trypanosoma cruzi*. A, B, C: tripomastigotes en la sangre; D, E: epimastigote (con membrana corta ondulante anterior); F: colonia de amastigotes en músculo cardíaco. (1 700 ×)

Cuadro 46-1. Diferenciación entre el *T. cruzi* y el *T. rangeli*

	<i>T. cruzi</i>	<i>T. rangeli</i>
Formas sanguíneas	20 µm	Mayor de 30 µm
Tamaño		
Forma	Frecuentemente en forma de C en preparaciones fijadas	Raras veces en forma de C
Cinetoplasto posterior	Terminal, largo	Distintivamente subterminal, pequeño
Etapas de desarrollo en los tejidos	Amastigote a epimastigote	No se encuentra (sólo tripomastigotes)
Chinche triatomina En glándula salival, probóscide	Siempre ausente	Comúnmente presente
En el intestino posterior o las heces	Presente	Presente

Patogenia, patología y datos clínicos

Los tripanosomas infectantes de *T. b. gambiense* y *T. b. rhodesiense* se introducen a través de la picadura de la mosca tse-tse y se multiplican en el sitio de inoculación causando induración e inflamación variables (lesión primaria), la cual puede progresar hasta formar un chancro tripanosómico. Se propagan a los ganglios linfáticos, al torrente sanguíneo y, en etapas terminales, al sistema nervioso central, donde producen el síndrome típico de la enfermedad del sueño: laxitud, incapacidad para comer, pérdida de la masa tisular, pérdida de la conciencia y muerte.

Las formas infectantes del *T. cruzi* no pasan a los humanos por picadura del mosquito triatomino (modo de entrada del *T. rangeli* no patógeno); se introducen cuando se frota heces de chinche infectada en la conjuntiva, el sitio de la picadura o las heridas de la piel. En el sitio por donde entra el *T. cruzi* puede haber un nódulo inflamatorio subcutáneo o chagoma. La enfermedad de Chagas es común en lactantes. La inflamación unilateral de los párpados (signo de Romaña) es característica al principio, especialmente en niños. La lesión primaria se acompaña de fiebre, linfadenitis regional aguda y diseminación a sangre y tejidos. Por lo general, se pueden detectar los parásitos en 1 a 2 semanas como tripomastigotes en la sangre. El desarrollo subsecuente depende de los órganos y tejidos afectados, así como de la naturaleza de la multiplicación y liberación de toxinas.

Las formas africanas se multiplican fuera de las células como tripomastigotes en la sangre y también en los tejidos linfoides. El *T. cruzi* se multiplica sobre todo en células retículoendoteliales, pasa por un ciclo que se inicia con gran aglomeración de amastigotes. En las estructuras africanas y americanas, la multiplicación en los tejidos se interrumpe por fases de parasitemia con destrucción tardía de las formas sanguíneas por el huésped, acompañada por brotes de fiebre intermitente de intensidad gradualmente decreciente.

La parasitemia es más común en el *T. b. rhodesiense*, y es intermitente y escasa con el *T. cruzi*.

La liberación de toxinas explica en gran parte las reacciones sistémicas y locales. Los órganos más gravemente afectados son el sistema nervioso central y el músculo cardíaco. La miocarditis intersticial es la manifestación más grave en la enfermedad de Chagas. Otros órganos afectados son hígado, bazo y médula ósea, especialmente con la infección crónica por *T. cruzi*. La invasión o destrucción tóxica de los plexos nerviosos del aparato digestivo producen megaesófago y megacolon, sobre todo en la enfermedad de Chagas brasileña; en Colombia, Venezuela y América Central no se observan estos últimos. La afección del sistema nervioso central es más característica de la tripanosomiasis africana. El *T. b. rhodesiense* aparece en el líquido cefalorraquídeo en un mes aproximadamente, y el *T. b. gambiense* en varios meses, pero ambos se encuentran en número pequeño. La infección por *T. b. gambiense* es crónica y conduce a meningoencefalitis progresiva difusa con muerte por la enfermedad del sueño, por lo regular después de 1 a 2 años. La forma mortal más rápida del *T. b. rhodesiense* produce somnolencia y coma sólo durante las últimas semanas de una infección terminal. Los tres tripanosomas se transmiten a través de la placenta y en áreas hiperendémicas se observan infecciones congénitas.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Sangre, de preferencia se recolecta cuando aumenta la temperatura del paciente: líquido cefalorraquídeo; material aspirado de ganglios linfáticos o lesiones primarias. También se emplean muestras obtenidas por punción de la cresta ilíaca, médula ósea esternal o bazo.

B. Examen microscópico

La sangre fresca (o tejido aspirado en solución salina) se mantiene caliente y se examina inmediatamente en busca de los tripanosomas dotados de motilidad activa. Los frotis en gota gruesa pueden teñirse con colorante de Giemsa. Para la confirmación se requieren frotis delgados teñidos con Giemsa. A veces es necesario centrifugar. Los frotis de tejido deben teñirse para identificar las etapas pretripanosómicas. De manera similar se examina el líquido cefalorraquídeo centrifugado, pocas veces se encuentra más de un tripanosoma por mL. Las pruebas más confiables son frotis de sangre para el *T. b. rhodesiense*, muestras de punción de los ganglios linfáticos para *T. b. gambiense*, y líquido cefalorraquídeo para el *T. b. rhodesiense* y el *T. b. gambiense* avanzado.

C. Cultivo

Cualquier muestra puede inocularse en los medios de Tobie, semisólido de Weyon, NNN u otros medios para cultivar el *T. cruzi* o el *T. rangeli*. Los microorganismos crecen a 22 a 24 °C y se subcultivan cada 1 a 2 semanas. Se examina el material centrifugado en el microscopio en busca de tripanosomas. El cultivo de las formas africanas es insatisfactorio.

D. Inoculación en animales

El *T. cruzi* y el *T. rangeli* pueden detectarse inoculando sangre por vía intraperitoneal a ratones (cuando están disponi-

bles, cachorros de perro y de gato son los animales preferidos). Con este procedimiento frecuentemente se detecta el *T. b. rhodesiense* y en ocasiones el *T. b. gambiense*. Pocos días después de una inoculación satisfactoria aparecen tripanosomas en la sangre.

E. Serología

En la infección por *T. cruzi*, una prueba IHA, IFA o FC (de Machado) positiva da apoyo confirmatorio. La prueba ELISA con antígenos recombinantes recién desarrollada constituye una herramienta serodiagnóstica muy específica y sensible para detectar el *T. cruzi*. Estas pruebas son especialmente útiles para detección en bancos de sangre. Las formas africanas causan reacción en la prueba de IFA después de unos 12 días de la infección. Esto tiene utilidad especial en el diagnóstico del *T. b. gambiense*. Una prueba de aglutinación directa en tarjeta que utiliza el antígeno liofilizado del tripanosoma es valiosa en el trabajo de campo para instalaciones médicas rurales.

F. Xenodiagnóstico

Es el método preferido cuando se sospecha enfermedad de Chagas y otros exámenes son negativos, en especial durante la fase temprana de la enfermedad. Puesto que la infección con *T. cruzi* en el laboratorio es un peligro conocido, la prueba sólo deben ejecutarla trabajadores adiestrados en el procedimiento. Unas seis chinches triatoma limpias y criadas en el laboratorio se alimentan con sangre del paciente y después de 7 a 10 días se examinan sus deyecciones en busca de las diferentes formas de desarrollo. Poco después de una comida fresca tiene lugar la defecación o puede inducirse al estimular con cuidado el ano de la chinche y exprimir luego su abdomen. Para las formas africanas, el xenodiagnóstico es impracticable.

Diagnóstico diferencial

El *T. b. rhodesiense* y el *T. b. gambiense* son morfológicamente idénticos, pero se les puede distinguir por su distribución geográfica, especie vectora y enfermedad clínica en humanos. La presencia de IgM específica en el líquido cefalorraquídeo se considera patognomónica de la etapa encefalítica de la tripanosomiasis africana. Es importante diferenciar entre el *T. cruzi* y el *T. rangeli* (cuadro 46-1). Se ha descrito un procedimiento de laboratorio que puede diferenciar las dos especies con base en el DNA total digerido del parásito y analizado por electroforesis en gel de agarosa que a continuación se tiñe con bromuro de etidio.

Inmunidad

Los humanos muestran cierta variación individual en la resistencia natural al tripanosoma. En el plasma pueden detectarse anticuerpos fijadores de complemento y neutralizantes protectores, los que presuntamente conducen a la desaparición de las formas hematogénas. Cada recaída de la tripanosomiasis africana se debe a una cepa serológicamente distinta de la precedente. Aparte de estas recaídas, los africanos asintomáticos aún pueden presentar tripanosomas en la sangre.

Tratamiento

No hay fármaco eficaz para el tratamiento de la tripanosomiasis americana, aunque el nifurtimox (Bayer 2502®) más el interferón y pueden acortar la fase aguda y aliviar de manera transitoria a pacientes con tripomastigotes aún presentes en la sangre. El benznidazol (Rochagan®) es un fármaco alternativo recién probado. La tripanosomiasis africana se trata principalmente con suramina sódica (Germanin®) o isetionato de pentamidina (Lomidina®). La enfermedad tardía con afección del sistema nervioso central requiere melarsoprol (Mel B®) y suramino o triparsamida. Un nuevo fármaco prometedora es la eflornitina (difluorometil ornitina; DFbIO: [Omidyl]®), que actúa contra las fases hematogénica y del sistema nervioso central de la infección por *T. b. gambiense* y la etapa hemolinfática del *T. b. rhodesiense*.

Epidemiología, prevención y control

La tripanosomiasis africana se restringe a las franjas del planeta donde se sabe habita la mosca tse-tse. El *T. b. gambiense*, transmitido por la tse-tse ribereña *Glossina palpalis* y varios otros vectores tse-tse de la selva húmeda, se extiende desde África occidental hasta África central y produce una infección relativamente crónica con afección progresiva del sistema nervioso central. El *T. b. rhodesiense*, transmitido por *Glossina morsitans*, *Glossina pallidipes* y *Glossina fuscipes* de la sabana boscosa, se encuentra en las sabanas del oriente y el sureste de África, con focos al occidente del lago Victoria. Causa menor número de casos, pero es más virulento. El gamo y otros antilopes pueden servir como reservorios del *T. b. rhodesiense*, en tanto que los humanos son el principal reservorio del *T. b. gambiense*. El control depende de la búsqueda, el aislamiento y el tratamiento de pacientes que padecen la enfermedad; controlar los desplazamientos de la población dentro y fuera de las franjas donde predominan las moscas; uso de insecticidas en vehículos y control de moscas, principalmente con insecticidas en la atmósfera y alteración de su hábitat. Es difícil evitar el contacto con animales reservorio, y los repelentes para insectos tienen poco valor contra la picadura de la tse-tse.

La quimiopprofilaxis, por ejemplo, con suramina sódica, es difícil y de corta duración.

La tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas) es especialmente importante en Centro y Sudamérica, aunque la infección en los animales se extiende mucho más. Por ejemplo, desde Maryland hasta el sur de California. Se han informado pocos casos humanos autóctonos en Texas y en el sur de California. Ciertas chinches triatoma se han vuelto domésticas como chinches de cama, y la infección puede ser transmitida por ratas, zarigüeyas o armadillos, los cuales a veces propagan la infección a animales domésticos, como perros y gatos. Puesto que no se conoce tratamiento eficaz, es particularmente importante controlar a los vectores mediante insecticidas residuales y la modificación de su hábitat, como el reemplazo de ladrillos de adobe por techos de paja y evitar el contacto con animales reservorio. La enfermedad de Chagas aparece principalmente entre personas de nivel económico bajo. Se estima que 20 a 25 millones de personas albergan al parásito, muchas padecen daño cardíaco.

como resultado su capacidad de trabajo y su esperanza de vida disminuyen notablemente.

AMIBAS INTESTINALES

ENTAMOEBA HISTOLYTICA

La *Entamoeba histolytica* es un parásito común en el intestino grueso de los humanos, algunos primates y otros animales. Muchos casos son asintomáticos, excepto en humanos o en animales que viven bajo estrés (p. ej., primates cautivos en zoológicos).

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Se encuentran tres etapas: amiba activa, quiste inactivo y prequiste intermedio. El trofozoito amebicoide es la única forma presente en los tejidos. También se encuentra en las heces líquidas durante la disentería amebiana. Su tamaño es de 15 a 30 μm . El citoplasma tiene dos zonas, un margen exterior hialino y una región interna granular que podría contener eritrocitos (patogénicos) pero que por lo común no contiene bacterias. La tinción de hierro-hematoxilina o el colorante tricómico de Wheatley muestran la membrana nuclear limitada por finos gránulos regulares de cromatina con un pequeño cuerpo central (endosoma o cariosoma). En el material fresco el movimiento de los trofozoitos es brusco y unidireccional. Los pseudópodos son digitiformes y anchos.

Los quistes sólo se observan en la luz del colon y en heces pastosas o formadas. Los quistes esféricos de las amibas patógenas varían de 10 a 20 μm . Los quistes más pequeños, desde 10 μm hasta menos de 3.5 μm , de la *Entamoeba hartmanni* se consideran no patógenos. La pared del quiste, de 0.5 μm de espesor, es hialina. El quiste uninucleado inicial puede contener una vacuola con glucógeno y cuerpos cromatoides con extremos característicos redondeados (contrario a los cuerpos cromatoides bifurcados en los quistes en desarrollo de la *Entamoeba coli*). Dentro del quiste, la división del núcleo produce el quiste cuatrinucleado final y en ese tiempo desaparecen los corpúsculos cromatoides y las vacuolas de glucógeno. En la mayor parte de los casos el diagnóstico se basa en las características del quiste, puesto que los trofozoitos sólo aparecen en heces diarreicas de casos activos y sobreviven nada más unas cuantas horas, aunque pueden preservarse de manera excelente en el fijador de alcohol polivinílico (PVA). La muestra a veces contiene quistes con 1 a 4 núcleos según su grado de maduración.

B. Cultivo

Los trofozoitos son fáciles de estudiar en cultivo: pueden controlarse tanto la enquistación como la exquistación.

C. Requisitos para el crecimiento

El crecimiento es más vigoroso en algunos medios complejos enriquecidos o en cultivo de células bajo anaerobiosis

parcial a 37 °C y pH 7.0, con una flora mixta o al menos una sola especie coexistente.

D. Variación

Las variaciones en el tamaño del quiste se deben a diferencias nutricionales o a la presencia de una especie pequeña no patógena, la *E. hartmanni*. Las especies invasoras o patógenas se consideran ahora distintas de las no patógenas más comunes y permanentes en la luz intestinal, a las cuales se les dio el antiguo nombre de *E. dispar*, reservando el nombre de *E. histolytica* para las formas patógenas. La *E. dispar* no patógena se considera una especie distinta, aunque microscópicamente idéntica de *Entamoeba* con base en los análisis genético y de isoenzimas. Actualmente no existe una manera para distinguirlas, excepto mediante electroforesis con isoenzimas y análisis del DNA. La presencia de eritrocitos en los trofozoitos, de anticuerpos amebianos en sangre o de signos clínicos son entonces los únicos parámetros diagnósticos confiables cuando no se dispone de los análisis bioquímicos complejos y costosos.

Patogenia, patología y datos clínicos

Después de activarse el proceso de exquistación en estómago y duodeno emergen los trofozoitos de los quistes ingeridos (metaquistes). Los metaquistes se dividen con rapidez y producen cuatro amébulas (una por cada núcleo del quiste), cada una se divide una vez más para producir ocho pequeños trofozoitos por cada quiste infectante. Éstos pasan al ciego y producen una población permanente de trofozoitos que residen en la luz del intestino. Los trofozoitos se multiplican por fisión binaria. En la mayor parte de las infecciones, tal vez 90%, la infección permanece en la luz del intestino y los trofozoitos se multiplican como una colonia que se alimenta de bacterias; por último, se enquistan y salen al exterior en las heces. Esto presuntamente sucede con la *E. dispar*. La enfermedad se produce cuando los trofozoitos de *E. histolytica* invaden el epitelio intestinal. La invasión de la mucosa con ayuda de enzimas proteolíticas tiene lugar a través de las criptas de Lieberkühn, formando úlceras separadas entre sí, con un centro del tamaño de la cabeza de un alfiler y bordes prominentes, a través de las cuales pasan moco, células necrosadas y amibas. Los trofozoitos siempre inducen cambios patológicos; los quistes de *E. histolytica* no se producen en los tejidos. La superficie mucosa entre las úlceras suele ser normal. Las amibas se multiplican y acumulan por arriba de la muscularis mucosa y con frecuencia se propagan lateralmente. Puede presentarse cicatrización espontánea con escasa erosión de los tejidos si la regeneración procede con mayor rapidez que la destrucción, o los trofozoitos amebianos pueden romper la muscularis hacia la submucosa. Le sigue una rápida diseminación lateral por multiplicación de las amibas, lo que destruye la mucosa y produce la úlcera característica "en forma de matraz" de la amebiasis primaria: un pequeño punto de entrada, que conduce a un cuello estrecho a través de la mucosa y a un área necrosada expandida en la submucosa. En este momento no suele presentarse invasión bacteriana, la reacción celular es limitada y el daño tiene lugar por necrosis lítica. La propagación subsecuente puede ha-

cer confluir colonias de amibas, destruyendo grandes áreas de la superficie de la mucosa. A veces los trofozoitos penetran las capas musculares y la serosa, lo que produce una perforación hacia la cavidad peritoneal. El agrandamiento subsecuente del área necrosada produce cambios macroscópicos en la úlcera, que puede desarrollar bordes sobresalientes y ásperos, invasión bacteriana secundaria y acumulación de leucocitos neutrófilos. A veces se desarrollan lesiones intestinales secundarias como prolongación de la lesión primaria (comúnmente en ciego, apéndice o en la porción cercana del colon ascendente). En ocasiones, los microorganismos viajan hacia la válvula ileocecal y el ileo terminal y producen infección crónica. El colon sigmoide y recto son sitios predilectos de estas lesiones tardías. En la pared del intestino puede formarse una masa amebiana inflamatoria o granulomatosa semejante a un tumor (ameboma), el cual algunas veces crece lo suficiente para bloquear la luz intestinal.

Los factores que determinan la invasión amebiana incluyen los siguientes: número de amibas ingeridas, capacidad patógena de la cepa del parásito, factores del huésped como motilidad intestinal y competencia inmunitaria, y la presencia de bacterias entéricas adecuadas para incrementar el crecimiento de las amibas. Un motivo principal de incertidumbre es la dificultad para identificar correctamente las especies de *Entamoeba*. En tanto no se disponga de una prueba diagnóstica de laboratorio rápida y confiable esta confusión continuará (y el tratamiento innecesario también). Los trofozoitos, especialmente con eritrocitos en el citoplasma, encontrados en heces líquidas o pastosas son patognomónicos. Por lo general, las heces formadas sólo contienen quistes, mientras los pacientes con enfermedad activa y heces líquidas (con gran número de amibas, estrías sanguinolentas y moco) sólo suelen eliminar trofozoitos. Los síntomas varían mucho según el sitio y la intensidad de las lesiones. En la enfermedad grave se presentan dolor abdominal extremo, disentería fulminante, deshidratación e incapacidad. En la enfermedad menos aguda el inicio de los síntomas es gradual y hay episodios de diarrea, cólicos abdominales, náusea y vómitos y pú. Con mayor frecuencia se presentan cólicos y malestar general durante semanas, pérdida del apetito y del peso con malestar general. Pueden desarrollarse síntomas unos cuatro días después de la exposición, aparecer hasta un año después, o no presentarse nunca.

La infección extraintestinal es metastásica y algunas veces tiene lugar por extensión directa desde el intestino. Las variantes más comunes son la hepatitis amebiana o absceso hepático (4% o más de las infecciones clínicas), presuntamente causadas por microémbolo, que incluyen trofozoitos que llegan a través de la circulación portal. Se asume que las lesiones intestinales comúnmente se acompañan de microémbolo con trofozoitos al hígado, pero que estas lesiones focales difusas rara vez progresan. Un verdadero absceso amebiano es progresivo, no supurante (a menos que exista infección secundaria) y destructor, sin compresión ni formación de pared. El contenido es necrótico y bacteriológicamente estéril, y las amibas activas se confinan a las paredes. En el absceso se produce pus "achocolatado" que se observa durante el drenaje quirúrgico. Más de la mitad de los pacientes con absceso hepático amebiano no presentan antecedente de infección intestinal, y sólo uno de cada ocho eliminan quistes en las heces. Algunas veces,

el absceso amebiano también aparece en otras partes (p. ej., pulmón, cerebro, bazo, o drena a través de la pared del cuerpo). Cualquier órgano o tejido en contacto con los trofozoitos activos puede convertirse en un sitio de invasión y de absceso.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

1. Heces líquidas:
 - a. Recién evacuadas y tibias para examen inmediato en busca de trofozoitos.
 - b. Preservadas en alcohol polivinílico (PVA) como fijador o fijadas con meriolate-yodo-formalina (MIIF) para enviar a un laboratorio de diagnóstico (en tubo hermético o doble tubo, el interno de metal).
 - c. Después de una purga con solución salina (o enema alto después de purga salina) para quistes y trofozoitos.
2. Heces formadas para detección de quistes.
3. Los raspados y las biopsias se obtienen por medio de un sigmoidoscopio o (más comúnmente) colonoscopio, mediante colonoscopia.
4. Material aspirado del borde del absceso hepático y no del centro necrosado. El material aspirado viscoso debe tratarse con una enzima licuante como estreptodornasa y luego cultivarse o examinarse en el microscopio.
5. Sangre para pruebas serológicas y recuento de células.

B. Examen microscópico

Si el paciente presenta síntomas y evacuaciones diarreas, siempre que sea posible deben examinarse en fresco las heces en busca de trofozoitos. De otra manera, teñir los frotis con colorante tricrómico o de hierro-hematoxilina. Las evacuaciones de la disentería amebiana casi siempre pueden distinguirse de disentería bacilar: las primeras contienen muchos residuos fecales, pequeñas cantidades de sangre con hebras de moco no pegajoso y eritrocitos deformados, pocos leucocitos polimorfonucleares o macrófagos, escasos cristales de Charcot-Leyden, y trofozoitos. Aunque se requiere considerable experiencia para distinguir la *E. histolytica* de la *E. coli* (véase después), es necesario hacerlo porque un error diagnóstico con frecuencia conduce a un tratamiento innecesario, tratamiento excesivo o falta de tratamiento. El problema de distinguir sistemáticamente la *E. histolytica* de la *E. dispar* aún no está resuelto.

La diferenciación de la *E. histolytica* (H) y de la *E. coli* (C), la más común de las otras amibas intestinales, puede establecerse en los frotis teñidos de la manera siguiente:

1. Trofozoitos: el citoplasma en H es cristalino y finamente granular, y sólo contiene eritrocitos y vacuolas esféricas. En C, el citoplasma es granuloso, con muchas bacterias y otras inclusiones y vacuolas elipsoides. El núcleo de H tiene un endosoma central muy pequeño y gránulos finos regulares de cromatina que revisten la periferia; el núcleo de C tiene un endosoma excéntrico de mayor tamaño y la cromatina periférica está más burdamente fragmentada y distribuida de manera menos regular alrededor de la membrana nuclear

Los trofozoítos moribundos y prequistes de H y C generalmente son indistinguibles.

2. **Quistes:** las vacuolas de glucógeno desaparecen durante las divisiones sucesivas. Los núcleos recuerdan a los de los trofozoítos. Algunos quistes raros de H y C pueden presentar 8 y 16 núcleos, respectivamente. En muchas preparaciones los quistes de H contienen gran número de quistes prematuros uninucleados; rara vez se observa esto en C. Los quistes binucleados en desarrollo de C a menudo muestran los núcleos comprimidos contra los lados opuestos de la pared celular por una gran vacuola central de glucógeno. En los quistes tempranos de H los cuerpos cromatoides son barras de extremos romos; los de C están bifurcados y por lo regular se encuentran en grupos.

C. Cultivo

Los cultivos diagnósticos se efectúan en una capa de líquido que cubre una base sólida nutriente con anaerobiosis parcial. Los medios utilizados con mayor frecuencia son el difásico de Dobell y el de Cleveland-Collier.

D. Serología

Las pruebas serológicas se emplean principalmente para la amebiasis extraintestinal, en la que las heces casi siempre son negativas. El serodiagnóstico, de ordinario mediante prueba de AHI, se considera sensible y específico, aunque no permite distinguir infecciones recientes de anteriores. En las infecciones intestinales son menos confiables las pruebas serológicas, excepto en los casos con invasión considerable del tejido. Las preparaciones disponibles en el comercio emplean la técnica de aglutinación en látex (Serameba); la técnica Ouchterlony de doble difusión (Paratek); y la contraelectroforesis (Amoebogen). Las respuestas positivas a varias pruebas son valiosas en apoyo de los intentos para diagnosticar los casos dudosos de amebiasis extraintestinal. Los anticuerpos antiamebianos se presentan sólo con *E. histolytica*, puesto que *E. dispar*, como no patógeno, no provoca una respuesta serológica.

La prueba Enzimeba se basa en el hallazgo de histolisina (principal proteasa cisteína de la forma virulenta) en el intestino, además de los anticuerpos circulantes a histolisina después de la invasión del tejido. La prueba es un inmunoanálisis enzimático en fase sólida para detectar histolisina en las heces. Esta prueba es especialmente útil cuando no se encuentran quistes o trofozoítos en el examen microscópico. Otra prueba para distinguir las cepas patógenas de las no patógenas (*E. dispar* en una muestra de heces es una prueba ELISA que emplea anticuerpos monoclonales contra la adhesina galactosa, un epítopo patógeno específico de la *E. histolytica*. El antígeno amebiano (prueba Tech-Lab) en la heces es sensible y específica para *E. histolytica* y al parecer no responde a *E. dispar* u otras amebas no patógenas.

E. Métodos de radiación

El absceso hepático, que por lo común se muestra como una elevación del domo derecho del diafragma, se puede observar mediante ultrasonografía, TC, IRM o examen con radioisótopos. La lesión hepática redonda u oval se delimita de manera clara y, con frecuencia, abrupta desde el tejido

normal circundante. En estos casos las pruebas serológicas son, por lo común, positivas.

Tratamiento

La amebiasis asintomática (personas que expulsan quistes) puede tratarse con yodoquinol (Yodoxin®); furoato de diloxanida (Furamida®); o paromomicina (Humatin®).

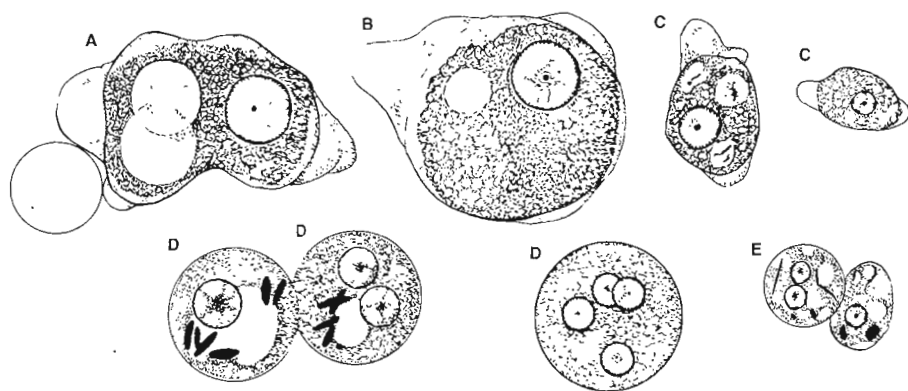
Tal vez el metronidazol (Flagyl®) es el fármaco preferido para la amebiasis sintomática, aunque es mutágeno para bacterias. Para la enfermedad intestinal leve a moderada, administrar metronidazol o tinidazol (Fasigyn®; fármaco excelente de escasa toxicidad pero no disponible en EUA). Para la enfermedad intestinal grave (disentería amebiana) administrar el régimen descrito antes, cuando no pueden seguirse otros regímenes, dehidroemetina (o emetina). Para la amebiasis hepática u otra amebiasis extraintestinal, o para el ameboma, administrar metronidazol, o tinidazol o dehidroemetina (o emetina).

Epidemiología, prevención y control

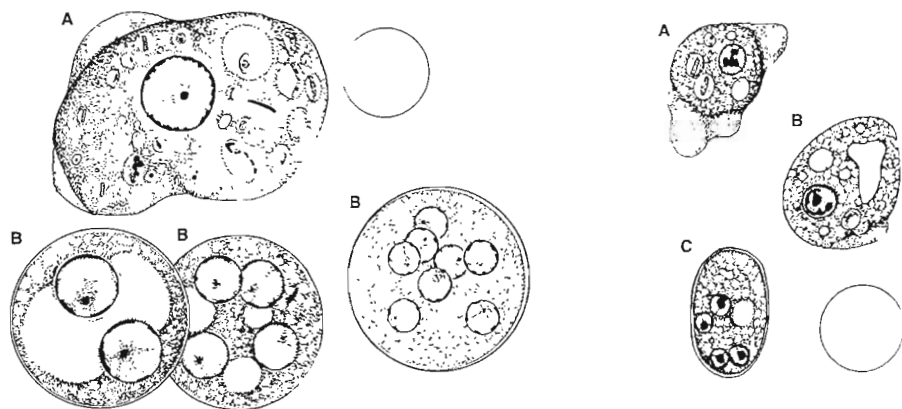
Por lo general, los quistes se ingieren al beber agua contaminada, pero en los trópicos, las verduras y alimentos contaminados también son fuente importante; en áreas donde hay contaminación fecal, su aparición se atribuye a las moscas. Las personas asintomáticas que eliminan quistes son la principal fuente de contaminación y a veces causan brotes epidémicos graves cuando el suministro de agua potable se contamina con aguas negras o no se siguen las normas sanitarias (como en instituciones de enfermos mentales, geriátricos, para niños y en prisiones). Una dieta abundante en carbohidratos y escasa en proteínas favorece el desarrollo de disentería amebiana, tanto en animales de experimentación como en algunos casos humanos conocidos. Las medidas de control consisten en mejorar las condiciones sanitarias ambientales y de los alimentos. El tratamiento de los portadores está sujeto a debate, pero hay concordancia en impedirles el manejo de alimentos. La posible contaminación ambiental debe considerarse en las decisiones de tratamiento para personas asintomáticas que expulsan quistes. Aún no se dispone de un fármaco totalmente satisfactorio y seguro para la quimioprophilaxia, y la mezcla de fármacos requerida para la terapéutica confirma los problemas del tratamiento de la amebiasis.

OTRAS AMIBAS INTESTINALES (Figura 46-9)

Entamoeba histolytica debe distinguirse no sólo de *E. dispar*, sino además de otros cuatro microorganismos ameboides también parásitos intestinales en humanos: 1) *Entamoeba coli*, muy común; 2) *D. fragilis*, el único parásito intestinal diferente de la *E. histolytica* sospechoso de causar diarrea y dispepsia, pero no de ser invasor; 3) *Iodamoeba bütschlii*; y 4) *Endolimax nana*. Para facilitar la detección de los quistes, éstos deben concentrarse por flotación en sulfato de cinc o mediante alguna técnica similar. Deben

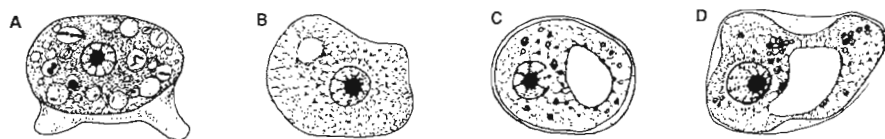


Entamoeba histolytica. **A, B**: trofozoito (forma vegetativa) con eritrocitos ingeridos en **A**; **C**: trofozoito de *Entamoeba hartmanni* con vacuolas de alimento, sin eritrocitos; **D**: quistes con 1, 2 y 4 núcleos y cuerpos cromatoides; **E**: quiste binucleado *E. hartmanni* (izquierda), prequiste uninucleado (derecha).



Entamoeba coli. **A**: trofozoito con vacuolas e inclusiones; **B**: quistes con 2, 4 y 8 núcleos, este último maduro.

Endolimax nana. **A**: trofozoito; **B**: forma prequística; **C**: quiste binucleado.



Iodamoeba bütschlii. **A**: trofozoito; **B**: forma prequística; **C** y **D**: quistes que muestran una gran vacuola de glucógeno (no teñida en preparación hierro-hematoxilina). Nótese la forma variable de los quistes.

investigarse sistemáticamente preparaciones no teñidas, teñidas con tricromo o con hierro-hematoxilina y teñidas con yodo. Pueden presentarse infecciones mixtas que incluyen la *E. histolytica* y la *E. dispar*. Para la preservación de los trofozoítos, la fijación con alcohol polivinílico (PVA) tiene especial valor. La presencia de ambas no patógenas es una fuerte indicación de condiciones sanitarias deficientes o de contaminación fecal accidental, y ambas situaciones plantean la posibilidad de exposición a la *E. histolytica* patógena o a un posible estado de inmunodeficiencia preSIDA.

BALANTIDIUM COLI

Balantidium coli (causa de la balantidiasis o de la disentería balantidiasica) es el protozoo intestinal más grande de los humanos. Morfológicamente es similar a los parásitos ciliados y se encuentra en cerdos y primates no homínidos.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos (figura 46–10)

El trofozoito es un microorganismo oval y ciliado de 60 x 45 µm o mayor. Sus movimientos son una combinación

característica de avance continuo y rotación alrededor del eje mayor. La pared celular está recubierta de filas de cilios espirales. El citoplasma rodea dos vacuolas contráctiles, partículas de alimento y vacuolas, así como dos núcleos: un macronúcleo grande en forma de riñón y un micronúcleo esférico mucho más pequeño. Cuando el microorganismo se enquistasecreta una pared de doble capa. Las macromoléculas, vacuolas contráctiles y porciones de la pared celular ciliada se visualizan en el quiste, cuyo tamaño varía de 40 a 70 µm de diámetro.

B. Cultivo

Estos microorganismos pueden cultivarse en muchos medios para cultivo de amibas intestinales.

Patogenia, patología y datos clínicos

Cuando los quistes son ingeridos por un nuevo huésped, la pared del quiste se disuelve y libera trofozoítos que descienden al colon donde se alimentan de bacterias y residuos fecales, se multiplican de manera sexual y asexual y forman quistes que pasan a las heces. La mayor parte de las infecciones en apariencia son inocuas. Sin embargo, raras veces, los trofozoítos invaden la mucosa y la submucosa del intestino grueso y del íleo terminal. Conforme se multiplican forman abscesos y ulceraciones irregulares con márgenes sobresalientes. El número de lesiones depende de la intensidad de la infección y del grado de susceptibilidad individual del huésped. La diarrea crónica recidivante que

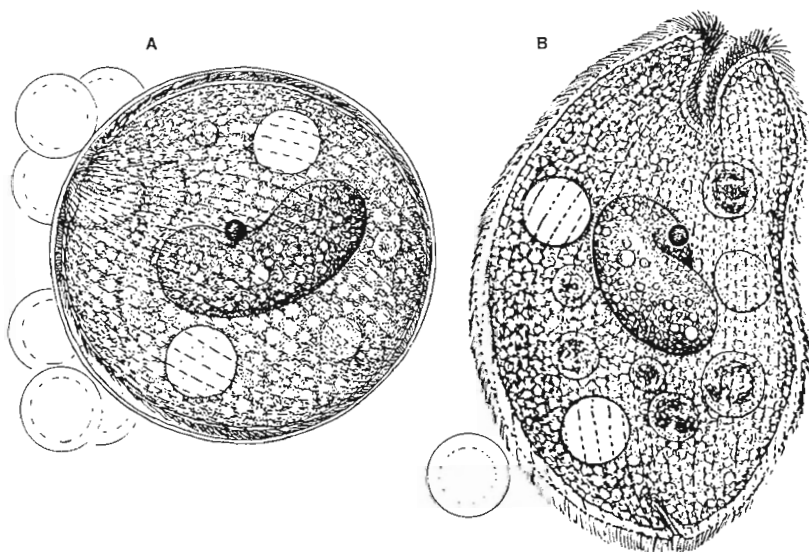


Figura 46–10. *Balantidium coli*. A: quiste; B: trofozoito. (2 000 x) (Los círculos dobles sencillos representan el tamaño de los eritrocitos.)

alterna con estreñimiento es la manifestación clínica más común, pero pueden observarse heces con moco y sangre, tenesmo y cólico. Los casos extremos pueden simular una amebiasis intestinal grave y algunos han sido mortales.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

El diagnóstico de infección balantidística, sintomática o no, depende de la detección en el laboratorio de trofozoitos en heces líquidas o, algunas veces, de quistes en heces formadas. La sigmoidoscopia puede ser útil, con objeto de obtener material directamente de las úlceras para examen. Pocas veces se requiere cultivo.

Inmunidad

Al parecer, los humanos poseen una gran resistencia natural a la infección por *Balantidium*. Se desconocen los factores subyacentes de la susceptibilidad individual.

Tratamiento

Un ciclo de oxitetraciclina puede ir seguido de yodoquinol o metronidazol si fuera necesario.

Epidemiología

El *B. coli* se encuentra en humanos en todo el mundo, sobre todo en los trópicos, pero es una infección poco frecuente. La infección se contrae al ingerir quistes viables previamente expulsados en las heces de humanos y tal vez de cerdos. Los criadores de puercos y trabajadores de rastros se encuentran en riesgo particular, aunque las condiciones sanitarias deficientes y el hacinamiento en cárceles, instituciones para enfermos mentales o campamentos se han vinculado con la infección. En Papúa, Nueva Guinea, los cultivos de materiales procedentes de cerdos revelan grados de infección de 28%.

AMIBAS DE VIDA LIBRE

En Europa y Norteamérica se presenta meningoencefalitis amebiana primaria por invasión de amibas al cerebro. Se han implicado a las amibas libres que habitan en el suelo, como la *Naegleria fowleri*, la *Acanthamoeba castellanii* y quizá especies de *Hartmannella*. La mayor parte de los casos se presentan en niños que nadan y bucean en aguas tibias de albercas cubiertas o, comúnmente, a la intemperie contaminadas con tierra. Al parecer, las amibas (principalmente la *N. fowleri*) entran a través de la nariz y la lámina cribosa del etmoides y pasan de manera directa al tejido cerebral, donde con rapidez forman nidos de amibas que

causan hemorragia y daños extensos, sobre todo en las porciones basales del cerebro y cerebelo; en la mayor parte de los casos la muerte sobreviene en menos de una semana. También se ha informado la entrada de *Acanthamoeba* al sistema nervioso central a partir de úlceras cutáneas o penetración traumática, como en la queratitis por punción de la superficie corneal o ulceración causada por solución salina contaminada usada en los lentes de contacto. El diagnóstico se establece por examen microscópico del líquido cefalorraquídeo, que contiene trofozoitos y eritrocitos pero no bacterias. Las amibas se pueden cultivar con facilidad sobre placas de agar no nutritivo sembradas con *Escherichia coli*. Estas amibas del suelo se distinguen por su núcleo grande y característico; presencia de vacuolas contráctiles y mitocondrias (ausentes en la *Naegleria*); así como quistes que poseen un solo núcleo y carecen de cuerpos de glucógeno o cromatoides. La *Acanthamoeba* puede enquistarse en los tejidos invadidos, mientras la *Naegleria*; no. En unos pocos casos el tratamiento con anfotericina B ha tenido éxito, principalmente cuando el diagnóstico se establece con prontitud.

ESPOROZOARIOS DE LA SANGRE

PLASMODIOS

Los esporozoarios del género *Plasmodium* son parásitos intracelulares ameboides de los vertebrados, productores de pigmentos, con un hábitat en eritrocitos y otro en las células de otros tejidos. Se transmiten al ser humano mediante la picadura de la hembra de varias especies del mosquito hematófago anófeles.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

Por lo regular, cuatro especies de plasmodios infectan al ser humano: *Plasmodium vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* y *P. falciparum*. En los cuadros 46-2 y 46-3 se presentan otras características y la morfología de estas especies, las cuales se ilustran en la figura 46-11.

B. Cultivo

Los parásitos del paludismo humano se han cultivado con éxito en medios líquidos que contienen suero, eritrocitos, sales inorgánicas, diferentes factores de crecimiento y aminoácidos. Se ha logrado un cultivo continuo de la fase eritrocítica en esquizeogonía (división asexual múltiple) y es de importancia decisiva para el desarrollo de una vacuna.

C. Características de crecimiento

En el eritrocito huésped, los parásitos convierten la hemoglobina en globina y hematina; esta última se modifica para convertirse en el pigmento característico del paludismo. La globina es desdoblada por enzimas proteolíticas y se digiere

Cuadro 46-2. Algunos rasgos característicos de los parásitos del paludismo de humanos (preparaciones teñidas con Romanowsky)

	<i>P. vivax</i> (paludismo benigno terciario)	<i>P. malariae</i> (paludismo cuartano)	<i>P. falciparum</i> (paludismo terciario maligno)	<i>P. ovale</i> (paludismo oval)
Eritrocitos parasitados	Crecidos, pálidos, punteado fino (puntos de Schüffner). Invade principalmente reticulocitos, eritrocitos jóvenes	No crecidos. No punteados (excepto con tinciones especiales). Invade principalmente eritrocitos viejos	No crecido. Burdamente punteado (hendiduras de Maurer). Invade todos los eritrocitos cualquiera que sea su edad*	Crecido, pálido. Puntos de Schüffner conspicuos. Células con frecuencia ovales, fimbriadas o arrugadas
Grado de la parasitemia máxima	Más de 30 000/μL de sangre	Menor de 10 000/μL	Puede exceder 200 000/μL; comúnmente 50 000/μL	Menos de 10 000/μL
Trofozoitos en etapa anular	Anillos grandes (1/3 a 1/2 del diámetro del eritrocito). Por lo general, un gránulo de cromatina; anillo delgado	Anillos grandes (1/3 del diámetro del eritrocito). Por lo general un gránulo de cromatina; anillo grueso	Anillos pequeños (1/5 del diámetro del eritrocito). Con frecuencia dos gránulos; es común la presencia de múltiples infecciones; anillo delgado, puede adherirse a eritrocitos	Anillos grandes (1/3 del diámetro del eritrocito). Por lo general, un gránulo de cromatina, anillo grueso
Pigmento en trofozoitos en desarrollo	Fino; ligeramente café; disperso	Burdo; café oscuro; grumos dispersos; abundantes	Burdo; negro; pocos grumos	Burdo; amarillo café oscuro; disperso
Trofozoitos más viejos	Muy pleomórfico	Formas de banda ocasionales	Compacto y redondo ¹	Compacto y redondo
Esquizontes maduros (segmentadores)	Más de 12 merozoitos (14 a 24)	Menor de 12 merozoitos grandes (6 a 12) con frecuencia en roseta	Por lo general, más de 12 merozoitos (8 a 32). Poco frecuente en sangre periférica ¹	Menos de 12 merozoitos grandes (6 a 12). Con frecuencia en roseta
Gametocitos	Redondo u oval	Redondo u oval	En forma de media luna	Redondo u oval
Distribución en la sangre periférica	Todas las formas	Todas las formas	Sólo anillos y medias lunas (gametocito) ¹	Todas las formas

*Por lo general, sólo las etapas anulares o de gametocito se observan en la sangre periférica infectada con *P. falciparum*; las etapas posteriores a las anulares hacen adherentes a los eritrocitos, los cuales tienden a ser retenidos en los lechos capilares profundos, excepto en las infecciones masivas, por lo general mortales.

re. También se utilizan oxígeno, glucosa, lactosa y proteínas eritrocíticas.

D. Variación

Existen variaciones de cepas en cada una de las cuatro especies que infectan al humano. Se han detectado diversidades en morfología, patogenicidad, características enzimáticas, resistencia al tratamiento con fármacos, infectividad por mosquitos y otras características.

Patogenia, patología y datos clínicos

En humanos, la infección es causada por la picadura de un mosquito anofeles hembra infectado, en el cual los esporozoitos inyectados al torrente sanguíneo se producen durante el ciclo sexual y el subsecuente esporogónico de desarrollo en el mosquito. Los esporozoitos penetran con rapidez (generalmente antes de una hora) a las células parenquimatosas del hígado donde tiene lugar la primera etapa del

Cuadro 46-3. Factores de tiempo de los diferentes plasmodios respecto de los ciclos

	Duración del ciclo sexual (en mosquito a 27 °C)	Periodo prodrómico ¹ (en humanos) (ciclo preeritrocítico)	Duración del ciclo asexual (en humanos)
<i>P. vivax</i> (fiebre palúdica terciana o vivax)	8 a 9 días	8 días	48 h
<i>P. malariae</i> (fiebre palúdica cuartana o malariae)	15 a 20 días	15 a 16 días	72 h
<i>P. falciparum</i> (fiebre palúdica maligna terciana o falciparum)	9 a 10 días	5 a 7 días	36 a 48 h
<i>P. ovale</i> (paludismo ovale)	14 días	9 días	48 h

¹Sólo el periodo preeritrocítico. Por lo general, el periodo total de incubación antes del paludismo clínico incluye el periodo prodrómico (que termina 48 h después de la infección de los eritrocitos), mas 2 o 3 ciclos esquizogónicos eritrocíticos y puede extenderse durante más tiempo.

Etapas	Parásitos			
	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>	<i>P. falciparum</i>
Etapa anular				
Trofozoito en desarrollo				
Esquizonte en desarrollo				
Esquizonte				
Microgametocito				
Macrogametocito				

Figura 46-11. Características morfológicas de las etapas de desarrollo de los parásitos del paludismo en los eritrocitos. Nótese los puntos citoplásmicos de Schüffner y las células huésped crecidas en infecciones por *P. vivax* y *P. ovale*; con frecuencia se observan trofozoitos en forma de banda en la infección por *P. malariae*, y los anillos pequeños comúnmente infectantes y en multiplicación, así como los gametocitos en forma de salchicha en infecciones por *P. falciparum*. Los anillos y gametocitos típicamente se observan en frotis de sangre periférica de pacientes con infecciones por *P. falciparum*. (Reproducido con autorización de Goldsmith R, Heyneman D: *Tropical Medicine and Parasitology*. McGraw-Hill, 1989.)

desarrollo en humanos (fase **exoeritrocítica** del ciclo biológico). A continuación la numerosa progenie asexual, los **merozoítos**, rompe y sale del hepatocito, entra al torrente sanguíneo e invade los eritrocitos. En el eritrocito, los parásitos se multiplican de una manera característica de la especie, rompiendo las células huésped sincrónicamente. Éste es el ciclo **eritrocítico**, con aparición de sucesivas generaciones de merozoítos a intervalos de 48 h (*P. vivax*, *P. ovale*

y *P. falciparum*) o cada 72 h (*P. malariae*). El periodo de incubación incluye los ciclos exoeritrocítico (comúnmente dos) y al menos 1 o 2 ciclos eritrocíticos. Para el *P. vivax* y el *P. falciparum*, este periodo suele ser de 10 a 15 días, pero puede ser de semanas o meses. El periodo de incubación del *P. malariae* es de 28 días en promedio. Los merozoítos no retornan de los eritrocitos a las células hepáticas. Sin tratamiento, la infección por *P. falciparum* por lo genera-

termina en menos de un año, salvo que se presente la muerte. Las otras tres especies continúan su multiplicación en los hepatocitos mucho tiempo después de la invasión inicial del torrente sanguíneo, o la multiplicación puede **aplazarse** en el hígado. Estos ciclos exoeritrocíticos coexisten con ciclos eritrocíticos y, en *P. vivax* y *P. ovale*, pueden persistir como formas en reposo sin crecimiento o **hipnozoítos**, después que los parásitos han desaparecido de sangre periférica. El resurgimiento de la infección eritrocítica (**recaída**) tiene lugar cuando los merozoítos del hígado se rompen, no se fagocitan en el torrente sanguíneo y logran restablecer la infección en el eritrocito (paludismo clínico). Sin tratamiento, las infecciones por *P. vivax* y por *P. ovale* pueden persistir hasta cinco años con recaídas periódicas. Se han informado infecciones por *P. malariae* con duración de 40 años; se estima que es una infección eritrocítica crónica y no exoeritrocítica y, por tanto, se le denomina **recrudescencia** para distinguirla de una recaída.

Durante los ciclos eritrocíticos, algunos merozoítos penetran al eritrocito y se diferencian como gametos macho o hembra. Por tanto, el ciclo sexual se inicia en el huésped vertebrado, pero para continuar la fase esporogónica los gametocitos deben ser captados e ingeridos por un anopheles hematófago hembra según se muestra en la figura 46-12.

Las parasitemias por *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale* son de poca cantidad, debido principalmente a que los pa-

rásitos atacan de preferencia a los eritrocitos jóvenes o viejos, pero no a ambos; el *P. falciparum* invade los eritrocitos de todas las edades, incluso las células de la línea eritropoyética en la médula ósea, de modo que la parasitemia es muy grande. El *P. falciparum* también obliga a los eritrocitos parasitados a producir abundantes prolongaciones en forma de botón que se adhieren al revestimiento endotelial de los vasos sanguíneos, con la obstrucción, trombosis e isquemia local resultantes. Las infecciones por *P. falciparum* son, por consiguiente, más graves que las otras y con una tasa mucho mayor de complicaciones graves y con frecuencia mortales (paludismo cerebral, hiperpirexia palúdica, trastornos gastrointestinales, paludismo álgido, fiebre hemoglobinúrica). En consecuencia, en caso de paludismo causado por *P. falciparum* es imperativo establecer un diagnóstico correcto y oportuno porque puede salvar la vida del paciente. *P. malariae* se ha implicado en un síndrome nefrótico de niños ("nefrosis cuartana") con incidencia máxima alrededor de los cinco años de edad.

Los paroxismos periódicos palúdicos guardan correlación estrecha con los eventos en el torrente sanguíneo. Cuando una generación de parásitos en división sincrónica rompe el eritrocito huésped y escapa a la sangre, se inicia un escalofrío que dura de 15 a 60 min. En ese momento son comunes náuseas, vómito y cefalea. La etapa febril subsecuente, con duración de varias horas, se caracteriza por fie-

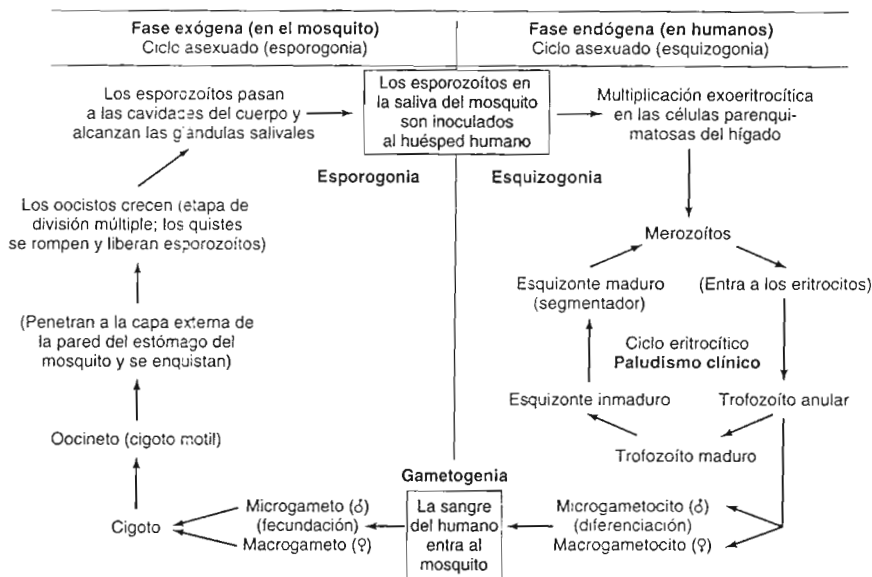


Figura 46-12. Ciclo biológico de los parásitos del paludismo. El ciclo continuo o multiplicación retardada en el hígado pueden causar recaídas periódicas durante varios años (1 a 2 años en el *P. ovale*, 3 a 5 años en el *P. vivax*), y la infección sanguínea de baja intensidad puede tener un resurgimiento a largo plazo (recrudescencia) en el *P. malariae*. Sin embargo, con el *P. falciparum* no se presentan recaídas, aunque puede presentarse un período prodrómico prolongado (quizá por supresión con fármacos) y como resultado los síntomas iniciales aparecen hasta seis meses o más después de la exposición.

bre en espigas que a menudo alcanza 40 °C o más. En esta etapa, los parásitos presuntamente invaden nuevos eritrocitos. La tercera etapa, o de diaforesis, concluye el episodio. La fiebre cede y el paciente cae dormido, luego despierta sintiéndose relativamente bien. En etapas tempranas de la infección, los ciclos suelen ser asincrónicos, y el patrón febril, irregular; más tarde, los paroxismos pueden recurrir a intervalos regulares de 48 o 72 h, aunque la piroxia por el *P. falciparum* puede durar 8 h o más y a veces excede 41 °C. Conforme la enfermedad avanza aparece esplenomegalia y, en menor grado, hepatomegalia. También se desarrolla anemia normocítica, sobre todo en infecciones por *P. falciparum*.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras y examen microscópico

En la actualidad, un frotis sanguíneo en capa gruesa teñido con Giemsa es la principal técnica en el diagnóstico del paludismo. En esta preparación los parásitos se concentran y esto permite detectarlos aun en infecciones leves. Para diferenciar las especies es necesario examinar el frotis sanguíneo en capa delgada teñido con Giemsa. Varias pruebas de captura de antígenos, donde se emplean métodos cromatográficos para detectar proteínas derivadas de trofozoitos en sangre lisada, se pueden utilizar para llegar a un diagnóstico rápido sin necesidad de examen microscópico. En estas pruebas se emplea una tira reactiva con anticuerpos monoclonales dirigidos contra antígenos parasitarios blanco. Estas pruebas diagnósticas rápidas pueden distinguir a *P. falciparum* o simultáneamente a las cuatro especies, mas no a las otras tres especies de manera individual. Actualmente, las pruebas diagnósticas rápidas se están estudiando intensivamente debido a su gran importancia y potencial para realizar diagnósticos de campo donde no se dispone del equipo y del personal necesarios para llevar a cabo los diagnósticos microscópicos.

B. Otros datos de laboratorio

Puede detectarse anemia normocítica de magnitud variable. Durante los paroxismos es posible observar leucocitosis transitoria; subsecuentemente se desarrolla leucopenia, con incremento relativo de células mononucleares grandes. Durante los ataques, las pruebas de funcionamiento hepático pueden ser anormales, pero retornan a lo normal con el tratamiento o la recuperación espontánea. La presencia de proteínas y cilindros en la orina de niños con *P. malariae* sugiere nefrosis cuartana. En la infección grave por *P. falciparum*, el daño renal puede causar oliguria y aparición de cilindros, proteínas y eritrocitos en la orina.

Inmunidad

Aún no se entienden por completo los mecanismos de inmunidad en el paludismo. Se ha observado inmunidad adquirida a cepas específicas, al parecer dependiente de una parasitemia de baja cuantía que de alguna manera inhibe nuevas infecciones o mantiene la infección asintomática. A esto se le denomina **premunición o inmunidad concomitante**, que pronto se pierde después de la desaparición de

los parásitos de la sangre. Las formas exoeritrocíticas del hígado no pueden apoyar por sí solas la premunición y no inducen la respuesta inflamatoria del huésped. Por tanto, la superinfección del hígado por cepas homólogas puede presentarse continuamente. En algunas poblaciones, notablemente en África donde la drepanocitemia, la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la talasemia confieren cierta protección contra concentraciones mortales de las infecciones por *P. falciparum*, se puede observar inmunidad parcial natural al paludismo determinada genéticamente. En África occidental, donde la enfermedad es endémica, la mayoría de las personas de raza negra son totalmente resistentes al paludismo por *P. vivax* porque carecen del antígeno Duffy (FyFy), que actúa como receptor del *P. vivax*; en su ausencia, el *P. vivax* no puede invadir a los eritrocitos. En esta región, el *P. ovale* sustituye con frecuencia al *P. vivax*.

Se ha identificado y clonado, mediante técnicas de anticuerpo monoclonal e hibridoma, al gen encargado del antígeno presente en la cubierta del esporozoito. Se ha desarrollado una vacuna antiesporozoito: sin embargo, en humanos las pruebas iniciales no han tenido éxito. Una vacuna tripeptídica sintética, SP166, desarrollada por Patartroy y sus colegas fue probada en Colombia y al parecer es parcialmente eficaz (< 50%). Una vacuna totalmente profiláctica debe ser activa contra esporozoitos y merozoitos de las especies a las cuales va dirigida y con efecto gametocitocida para frenar la transmisión (aún faltan algunos años para esto, a pesar de los intensos esfuerzos de investigación).

Tratamiento y prevención

La cloroquina (Aralen®) es el fármaco preferido para el tratamiento del ataque agudo de paludismo causado por cualquiera de las formas susceptibles; se administran 1.5 g de cloroquina (base) en un periodo de tres días o 1.8 g en cuatro días. En caso de coma palúdico por *P. falciparum* (paludismo cerebral o alérgico), debe emplearse dehidroclorhidrato de quinina por vía parenteral (no disponible en EUA) o gluconato de quinidina, en tanto se inicia la terapéutica por vía oral. Recientemente se informó la existencia de cepas del *P. vivax* resistentes a la cloroquina, pero este fármaco aún es el preferido para todos los tipos de paludismo, excepto la infección por *P. falciparum* resistente a la cloroquina. La primaquina, una 8-aminoquinolina, elimina las formas exoeritrocíticas del hígado (causantes potenciales de recaídas del paludismo) y permite la llamada curación radical. El paludismo por *P. falciparum* no permanece en el hígado después de su fase eritrocítica y, así, la curación de la forma clínica es radical. El tratamiento del paludismo clínico debe ir seguido de terapéutica con primaquina. Las personas con deficiencia de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, frecuentemente de raza negra o personas originarias del este del Mediterráneo, deben someterse a un ciclo más prolongado (o ninguno) con menor dosis de primaquina, debido a la posibilidad de anemia hemolítica. La primaquina también tiene actividad gametocitocida contra el *P. falciparum* después de una sola dosis de 45 mg de la base (en adultos).

Las cepas del *P. falciparum* resistentes a fármacos (resistencia a varios de ellos en algunas regiones, particularmente el sureste de Asia) se encuentran ahora en todas las

regiones tropicales endémicas, excepto la Península Arábiga, Centroamérica y la región del Caribe. Estas cepas resistentes deben tratarse con sulfato de quinina además de una dosis de pirimetamina-sulfadoxina (Fansidar®), con quinina además de doxiciclina o tetraciclina, o quinina más clindamicina. Como fármacos alternativos para el tratamiento del paludismo por *P. falciparum* resistente a la cloroquina se recomiendan la mefloquina (Lariam®) y alofantrina (Halfan®). El coma palúdico de paludismo falciparum resistente a cloroquina se debe tratar con quinina o quinidina parenteral más doxiciclina o clindamicina intravenosa. La terapia oral debe reemplazar al tratamiento parenteral tan pronto como sea posible, en lo que se refiere al paludismo cerebral resistente a cloroquina.

La profilaxis supresora puede instituirse con fosfato de cloroquina o amodiaquina, excepto en las regiones donde hay *P. falciparum* resistente a la cloroquina. La mefloquina es ahora el fármaco quimioproléptico de elección en regiones con cepas resistentes a la cloroquina, aunque repetidos informes de efectos adversos neurológicos y alteraciones del sueño han obligado a algunas autoridades a emitir recomendaciones contra su empleo continuo como profiláctico (sobre todo en el Reino Unido). Puede usarse doxiciclina, administrada diariamente, en regiones donde exista *P. falciparum* resistente a múltiples fármacos, como en la frontera occidental de Tailandia cerca de Myanmar y en su frontera oriental con Camboya, aunque en la región fronteriza entre Tailandia y Myanmar se ha demostrado que la mefloquina es un supresor eficaz en las embarazadas. De manera alterna, se puede administrar la cloroquina como profilaxis y mantener la pirimetamina-sulfadoxina como presunto tratamiento (dosis única de tres tabletas) en caso de brote de paludismo. Ningún régimen farmacológico puede garantizar la prevención del paludismo.

En fechas recientes se aprobó en EUA la combinación de proguanil (100 mg) y atovaquona (250 mg) (Malarone®), tanto para profilaxis como para tratamiento del paludismo falciparum resistente a varios fármacos. No es segura para utilizarse durante el embarazo y está contraindicada para personas con trastornos hepáticos y renales. Aunque aún se considera que la mefloquina es el fármaco de elección para la profilaxis de paludismo en áreas resistentes, el Malarone® se está utilizando cada vez más en su lugar. Los fármacos de combinación también se favorecen en forma creciente para el tratamiento, con la esperanza de retrasar el desarrollo de resistencia. Además de Malarone®, se incluiría atovaquona (500 mg) más doxiciclina (100 mg), así como artesunato y otros derivados de artemisinina del fármaco *qinghaosu*, obtenido de la planta china *Artemisia annua*, seguidos de mefloquina. Los viajeros deben evitar las picaduras de mosquito, usar como repelente dietiltoluamida (DEET) y dormir bajo un mosquitero impregnado con piretrinas (RID).

En el embarazo es indispensable continuar la profilaxis con cloroquina (no pirimetamina, ni sulfonamida) debido al peligro de transmisión de los parásitos del paludismo al feto a través de la placenta.

Con el número cada vez mayor de informes de paludismo *P. falciparum* resistente a múltiples fármacos, así como los complejos y variables regímenes sugeridos en diferentes regiones para profilaxis y tratamiento, lo mejor es consultar a los CDC Drug Service (teléfonos: 404-639-3670;

por la noche, fines de semana y días festivos: [CDC Security Section]: 404-639-2888; *malaria hot-line*: 770-488-7788; 888-232-3228; y en internet: www.who.int/health_topics/malaria/en/ y www.cdc.gov (seleccionar: traveler's health).

Epidemiología y control

En la actualidad, el paludismo se limita con frecuencia a regiones tropicales y subtropicales, aunque los brotes en Turquía muestran la capacidad de esta enfermedad para reaparecer en zonas liberadas del agente. El paludismo es poco frecuente en zonas templadas, aunque pueden tener lugar brotes epidémicos graves cuando las poblaciones principalmente no inmunes de estas áreas se exponen; por lo general es inestable y relativamente fácil de controlar o erradicar. El paludismo tropical suele ser más estable, difícil de controlar, y mucho más difícil de erradicar. En los trópicos, el paludismo generalmente desaparece a alturas por arriba de 2 000 m. El *P. vivax* y el *P. falciparum* (las especies más comunes) se encuentran en todo el cinturón geográfico palúdico. El *P. malariae* también se distribuye ampliamente, pero es menos común. El *P. ovale* es poco común, excepto en África occidental, donde parece sustituir al *P. vivax*. Todas las formas de paludismo pueden transmitirse a través de la placenta, mediante transfusión sanguínea o entre adictos por compartir agujas cuando uno está infectado. En estos casos no se desarrolla infección hepática o exoeritrocítica; por tanto, no se presentan recaídas. La infección natural (diferente de la transmitida a través de la placenta) sólo tiene lugar por picadura de un mosquito anopheles hembra infectado.

El control del paludismo depende de la eliminación de los criaderos de mosquitos, protección personal contra los mosquitos (mosquiteros protectores, mosquiteros tratados con piretrinas, repelentes), terapéutica supresora con fármacos para personas expuestas, así como tratamiento adecuado de los casos y portadores. Para la erradicación es necesario evitar las picaduras de mosquitos anopheles el tiempo suficiente para evitar la transmisión por contacto entre mosquitos y humanos, así como eliminar todos los casos activos mediante tratamiento y curación espontánea. Los esfuerzos masivos en las regiones tropicales muy endémicas no han tenido éxito. Los costosos proyectos de erradicación emprendidos entre 1955 y 1970 fueron reemplazados con programas de control orientados específicamente a la ecología del mosquito vector y a la epidemiología del paludismo en cada región. Estos programas deben continuarse como responsabilidades permanentes de la salud pública. Actualmente se lleva a cabo un gran esfuerzo dirigido por la OMS para "controlar el paludismo".

BABESIA MICROTI

Las especies de *Babesia* están ampliamente propagadas como parásitos de los animales, causan ictericia infecciosa en perros y fiebre del ganado de Texas (fiebre hemoglobínica). La babesiosis, una piropilosis infecciosa de los eritrocitos transmitida por garrapatas y causada en EUA por la *Babesia microti*, es una enfermedad humana, informada

cada vez con mayor frecuencia (más de 300 casos) en Massachusetts; el foco primario se encuentra en la isla Nantucket. Un caso de babesiosis en un soldado esplenectomizado informado en California se atribuyó a *B. gibsoni*. Los casos europeos —se tiene conocimiento de casi 30— se atribuyen a *B. divergens*, clasificada en fechas recientes como *Microbabesia divergens*, en tanto que *B. microti* se transfirió a la familia Theileriidae como *Theileria microti*. La clasificación anterior se conservó aquí en vista del amplio uso médico del término babesiosis. Sin embargo, se han presentado brotes recientes en personas sanas sin antecedente de esplenectomía, corticoterapia o infección recidivante. La mayor parte de las infecciones en las personas inmunológicamente competentes es asintomática, pero en personas afectadas la enfermedad se desarrolla de 7 a 10 días después de la picadura de garrapata y se caracteriza por malestar, anorexia, náuseas, fatiga, fiebre, sudación, mialgias, artralgias y depresión. En humanos, la *Babesia* puede confundirse con *P. falciparum* en su forma anular en los eritrocitos, aunque su forma en "cruz de Malta" en eritrocitos sin pigmento o en gametocitos es diagnóstica. La babesiosis humana es más grave en ancianos que en jóvenes. Las personas esplenectomizadas con parasitemia prolongada pueden desarrollar anemia hemolítica progresiva, ictericia e insuficiencia renal. La cloroquina proporciona mejoría clínica, pero no es curativa. El tratamiento con clindamicina por vía intravenosa o intramuscular más quinina oral da buenos resultados clínicos. También es eficaz administrar durante 10 días azitromicina seguida de atavacuona o quinina.

OTROS ESPOROZOARIOS

ISOSPOORA

La *Isospora belli*, un esporozoario del intestino humano, causa coccidiosis en el humano. En otros animales se encuentra un gran número de especies de esporozoarios intestinales o coccidias, que causan algunas de las enfermedades más importantes, desde el punto de vista económico, de mamíferos y aves domésticos. La *I. belli* es uno de los pocos coccidios que se multiplica sexualmente en el intestino humano, y los humanos son el huésped definitivo.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos

La biopsia intestinal de pacientes con isosporiasis crónica mostró las fases asexual esquizogónica y sexual productora de oocistos. El oocisto de la *I. belli* es de 25 a 33 x 12 a 16 µm y con frecuencia posee una pared quística asimétrica. *Cyclospora cayentanensis* es un coccidio intracelular intestinal, diminuto, que produce dos esporocistos, cada uno con dos esporozoítos, en el epitelio intestinal. La infección es por oocistos (8 a 10 µm), en alimentos o agua. Es común la infección mixta con *cryptosporidium*.

B. Cultivos

Estos parásitos no se han cultivado.

Patogenia y datos clínicos

La *I. belli* habita en el intestino delgado. Los signos y síntomas de la coccidiosis aparentemente se deben a la invasión y multiplicación de los parásitos en la mucosa intestinal. Los oocistos se desprenden en la luz intestinal y salen en las heces. Las infecciones pueden ser silenciosas o sintomáticas. Alrededor de una semana después de la ingestión de quistes viables puede aparecer fiebre de poca intensidad, adinamia y malestar, seguidos poco después por diarrea leve y dolor abdominal vago. La infección suele autolimitarse después de 1 a 2 semanas, pero la diarrea, pérdida de peso y fiebre pueden persistir de seis semanas a seis meses. La coccidiosis sintomática es más común en niños que en adultos. En personas mal nutridas, que viven en condiciones sanitarias deficientes donde es más probable la reinfección continua, y en personas inmunodeficientes, se observa infección crónica.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

El diagnóstico se basa en la detección de oocistos en muestras de heces frescas. En general, se requieren técnicas para concentrar las heces.

Inmunidad

Después de infección en animales, la inmunidad activa a coccidios está bien comprobada, aunque se carece de datos de la infección en humanos. Las abundantes especies de coccidios son notablemente específicas del huésped.

Tratamiento

El tratamiento de los casos leves consiste en reposo en cama y dieta blanda por unos cuantos días. Los casos más graves y crónicos se tratan con trimetoprim-sulfametoxazol. Los pacientes alérgicos a sulfonamida (p. ej., algunos pacientes con SIDA) pueden responder a la administración diaria de pirimetamina o ciprofloxacina. Los pacientes inmunodeficientes a veces requieren tratamiento continuo.

Epidemiología

La coccidiosis humana se produce por ingestión de quistes. Suele ser esporádica y más común en regiones tropicales y subtropicales, aunque se presenta en cualquier parte, incluso en E.U.A.

SARCOCYSTIS

Las especies de *Sarcocystis* son coccidios con un ciclo biológico bifásico: una etapa intestinal (sexual) en las células

de la mucosa del intestino de los carnívoros y una etapa de quiste en los tejidos (asexual) en el músculo y otras células de herbívoros u otros animales de presa. Los humanos aparentemente sirven como huéspedes intermediario y final, según la especie de *Sarcocystis*. Los voluntarios humanos alimentados con carne cruda de res y cerdo con quistes de *Sarcocystis* eliminaron posteriormente en las heces oocistos parecidos a la *Isospora*; resultados similares se obtuvieron en perros y gatos. La sarcocistosis humana se desarrolla por la ingestión de carne de res (*S. bovihumanis*) y de cerdo (*S. suihumanis*) mal cocidas.

Morfología e Identificación

En el músculo, los parásitos se desarrollan como sarcocistes alargadas que varían de menos de 0.1 mm hasta varios centímetros de largo. Cuando se liberan los zoítos infectantes (bradizoítos) de un sarcociste del intestino de un huésped definitivo (final), invaden las células de la mucosa intestinal y entran en una etapa sexual para producir oocistos, que típicamente se separan en dos esporocistos, cada uno de éstos contiene cuatro esporozoítos infectantes para el huésped intermediario (generalmente un herbívoro). Los esporocistos se excretan en las heces del huésped definitivo. Si los esporocistos son consumidos por un huésped intermediario se abren en el intestino, y cada uno libera cuatro esporozoítos, los cuales atraviesan la pared del intestino, pasan a los tejidos e invaden las células del huésped, donde cada esporozoíto se desarrolla en un nuevo sarcociste con gran número de bradizoítos.

Patogenia y datos clínicos

La infección masiva por sarcocistes puede ser mortal en algunos animales (p. ej., ratón, oveja, cerdo). Los extractos del parásito contienen sarcocistina, toxina que probablemente causa el efecto patógeno. No está claro si el parásito es patógeno para humanos. Sin embargo, la inflamación subcutánea fugaz, eosinofilia e insuficiencia cardíaca se han atribuido al *Sarcocystis*. Se han encontrado *Sarcocystis* en corazón, laringe y lengua del humano, y también en el músculo esquelético de las extremidades; se les denomina *S. lindemanni* sólo para designar al grupo, en ausencia de medios experimentales para alimentar un perro u otro depredador con tejidos humanos parasitados e identificar la especie del parásito.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

Por lo general, la infección no causa síntomas ni signos en humanos, aunque presuntamente se podrían desarrollar síntomas graves en personas inmunodeficientes. Se ha desarrollado una prueba de FC confiable para detectar la infección cuando se sospecha.

Tratamiento

No se conoce tratamiento eficaz.

Epidemiología

Las infecciones intestinales en los humanos resultan de la ingestión de tejidos de huéspedes intermediarios: oveja, carne de res u otras carnes infectadas crudas o mal cocidas. Las infecciones en los humanos siguen a la ingestión accidental de esporocistos infectantes, presumiblemente de heces de huéspedes finales como el perro o el gato.

CRYPTOSPORIDIUM

Las especies de *Cryptosporidium*, comúnmente *C. parvum* pueden infectar el intestino en personas inmunodeficientes (p. ej., personas con SIDA) y causar diarrea grave intratable. Los microorganismos son coecidios vinculados con la *Isospora*. Son parásitos de roedores, aves, monos *rhesus*, ganado bovino y otros herbívoros conocidos desde hace tiempo y tal vez en humanos son causa no identificada de gastroenteritis leve autolimitada y de diarrea.

Morfología e identificación

Los parásitos son diminutas esferas intracelulares (2 a 5 µm) observadas en gran número justo por debajo de la membrana externa de las células del revestimiento del estómago o el intestino. Por tanto, son intracelulares pero extraceloplásmicos. El trofozoito maduro (esquizonte) se divide en ocho merozoítos arciformes liberados por las células progenitoras para iniciar un nuevo ciclo. Pueden observarse oocistos que miden 4 a 5 µm y contienen cuatro esporozoítos, pero no se han demostrado esporocistos. Se presume que los oocistos excretados en gran cantidad en las heces son los agentes infectantes.

Patología y datos clínicos

El *Cryptosporidium* habita en el borde en cepillo de las células epiteliales de la mucosa del aparato gastrointestinal, en especial la superficie de las vellosidades de la porción inferior del intestino delgado. La característica clínica notable de la criptosporidiosis es diarrea leve y autolimitada (1 a 2 semanas) en las personas sanas, pero a veces grave y prolongada en personas inmunodeficientes, muy jóvenes o muy viejos.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

El diagnóstico depende de la detección de oocistos en muestras de heces frescas. Generalmente se requieren técnicas para concentrar las heces y utilizar un colorante acidorresistente modificado (García y Bruckner, 1997). Con los anticuerpos monoclonales se detectan infecciones leves, y es útil la microscopía fluorescente con tinción con auramina. En la actualidad se cuenta con pruebas ELISA para la detección de antígeno fecal.

Tratamiento

Los pacientes con inmunidad normal no requieren tratamiento. Cuando se administran inmunosupresores puede estar indicado interrumpirlos; para pacientes con SIDA o inmunodeficiencia congénita sólo se dispone de terapéutica de apoyo continuo. La espiramicina (Rovamicina®), la paromomicina (Humantina®), la nitazoxanida (Cryptaz®), o el tratamiento de combinación con azitromicina podrían ser eficaces por cierto tiempo.

Epidemiología y control

La criptosporidiosis se transmite a través de heces de humanos, de animales infectados y de alimentos o agua contaminados con heces. Los casos leves son comunes en granjeros. Para las personas en gran riesgo (inmunodeficientes, muy jóvenes o muy viejos) es necesario evitar contacto con heces de animales y prestar atención cuidadosa a las condiciones sanitarias. Los microorganismos se distribuyen ampliamente y tal vez causan infección asintomática a una proporción significativa de la población humana. Los brotes ocasionales, como el que se presentó en Milwaukee a principios de 1993 y que afectó a 400 000 personas, pueden resultar de protección, tratamiento o filtración inadecuados del agua suministrada a los grandes centros urbanos. En este caso, el estiércol del ganado vacuno de grandes lecherías aparentemente era la fuente de contaminación del suministro de agua. La capacidad de pocos microorganismos (30 son suficientes) para iniciar la infección y la del parásito para concluir su ciclo biológico, incluso la fase sexual, en el mismo huésped individual, hacen posibles las infecciones fulminantes comúnmente observadas en personas inmunosuprimidas.

TOXOPLASMA GONDII

El *Toxoplasma gondii* es un protozoo tipo coccidia distribuido en todo el mundo que infecta una extensa gama de animales y aves, pero no parece causarles enfermedad. El huésped final normal se restringe al gato y animales interrelacionados de la familia *Felidae*, único huésped donde puede desarrollarse la etapa sexual del *Toxoplasma* productora de oocistos. Los microorganismos (esporozoitos de oocistos o bradizoitos de quistes tisulares) invaden las células de la mucosa del intestino delgado del gato y forman esquizontes o gametocitos. La fusión de los gametos sexuales da lugar al desarrollo de oocistos que salen de las células del huésped hacia la luz del intestino y pasan al exterior en las heces. Estos oocistos infectantes, resistentes, recuerdan los de la *Isospora*. En cada oocisto se forman dos esporocistos y, en aproximadamente 48 h. se forman cuatro esporozoitos en cada esporocisto. Cuando los oocistos con sus ocho esporozoitos son ingeridos por un gato pueden repetir su ciclo sexual, o si son ingeridos por ciertas aves, un roedor u otro mamífero, incluso el hombre, pueden establecer una infección mediante la reproducción asexual. En este último caso, el oocisto se abre en el duodeno del humano o del animal y libera los ocho esporozoitos que atraviesan la pared intestinal, circulan en la sangre e inva-

den varias células, en especial macrófagos, donde forman trofozoitos. Se multiplican y rompen para propagar la infección a ganglios linfáticos y otros órganos. Estas células en forma de media luna se multiplican con rapidez (taquizoitos) e inician la etapa aguda de la enfermedad. Subsecuentemente penetran a las células nerviosas, sobre todo del cerebro y del ojo, donde se multiplican lentamente (como bradizoitos) para formar quistes latentes en los tejidos e iniciar la etapa crónica de la enfermedad. Los quistes de los tejidos (antes denominados pseudoquistes) resultan infectantes cuando son ingeridos por gatos (dando lugar a la etapa sexual intestinal y a la producción de oocistos) u otros animales (con producción de más quistes en los tejidos).

En humanos, el microorganismo produce toxoplasmosis congénita o posnatal. La infección congénita sólo se desarrolla cuando las madres no inmunes se infectan durante el embarazo y suele ser muy grave; la toxoplasmosis posnatal casi siempre es mucho menos grave. La mayor parte de las infecciones humanas son asintomáticas. Sin embargo, en pacientes con SIDA se pueden desarrollar infecciones mortales fulminantes, presuntamente por alteración de una infección crónica para convertirse en aguda. La enfermedad puede presentarse con gravedad variable en personas inmunodeficientes, manifestándose como retinitis o coriorretinitis, encefalitis, neumonitis y otras enfermedades.

Morfología e identificación

A. Microorganismos típicos (figura 46-13)

Los trofozoitos son células de pared delgada en forma de barco y de $4 \times 7 \times 2$ a $4 \mu\text{m}$ en las células de los tejidos, y un poco mayores fuera de las mismas. Se tiñen levemente con la tinción Giemsa; las células fijadas a menudo presentan aspecto de media luna. En ocasiones se observan agrega-

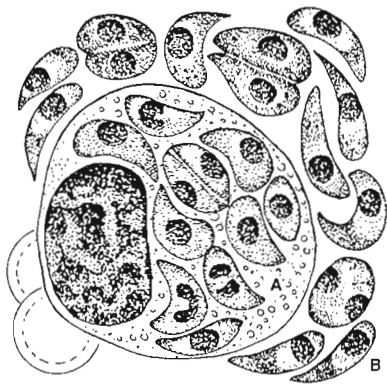


Figura 46-13. *Toxoplasma gondii*. A: trofozoitos en una célula mononuclear grande; B: libre en la sangre. No se encuentran dentro de los eritrocitos, pero parasitan muchos otros tipos de células, en particular las reticuloendoteliales. No se muestran quistes. (2 000 x)

dos intracelulares concentrados. En el cerebro u otros tejidos se encuentran verdaderos quistes. Estos quistes contiene miles de bradizoitos parecidos a esporas capaces de iniciar una nueva infección en los mamíferos que ingieren los tejidos portadores de quistes.

B. Cultivo

El *T. gondii* sólo puede cultivarse en presencia de células vivas, en cultivo de células o en huevos. Suelen observarse microorganismos intracelulares y extracelulares.

C. Requisitos de crecimiento

El crecimiento óptimo tiene lugar alrededor de 37 a 39 °C en células vivas.

D. Variaciones

Hay una variación considerable de infectividad y virulencia entre las cepas, tal vez relacionada con el grado de adaptación a un huésped particular. Se estima que todas estas formas están comprendidas en una sola especie, el *T. gondii*.

Patogenia, patología y datos clínicos

El taquizoito destruye las células de manera directa y muestra predilección por las células parenquimatosas y las del sistema reticuloendotelial. Los humanos son relativamente resistentes, pero puede presentarse infección de baja intensidad en los ganglios linfáticos que recuerda la mononucleosis infecciosa. Cuando se rompe un quiste de los tejidos libera gran número de bradizoitos y una reacción de hipersensibilidad local puede causar inflamación, oclusión de los vasos sanguíneos y muerte celular cerca del quiste dañado. La infección congénita es causa de mortinato, coriorretinitis, calcificaciones intracerebrales, trastornos psicomotores, hidrocefalia y microcefalia. En estos casos, la madre se infectó por primera vez durante el embarazo. La toxoplasmosis prenatal es causa importante de ceguera y otros defectos congénitos. La infección durante el primer trimestre generalmente produce mortinato o anomalías mayores en el sistema nervioso central. Las infecciones en el segundo y tercer trimestres inducen daño neurológico menos grave, aunque son más comunes. Las manifestaciones clínicas de estas infecciones pueden retardarse hasta mucho después del nacimiento, incluso más allá de la infancia. Los problemas neurológicos o dificultades para el aprendizaje pueden ser efectos muy tardíos de una toxoplasmosis prenatal al final del embarazo.

Pruebas diagnósticas de laboratorio

A. Muestras

Puede requerirse sangre (sobrenadante de una muestra heparinizada), esputo, médula ósea y líquido cefalorraquídeo, y exudados; material de biopsia de ganglios linfáticos, amígdalas y del músculo estriado; así como líquido ventricular (en infecciones neonatales).

B. Examen microscópico

Los frotis y cortes teñidos con Giemsa y otros colorantes especiales, como la técnica del ácido peryódico de Schiff,

pueden mostrar el microorganismo. Los quistes densamente concentrados, principalmente en cerebro y otras partes del sistema nervioso central, sugieren infección crónica.

C. Inoculación en animales

Comúnmente se emplea para el diagnóstico definitivo. Se pueden inocular varios tipos de muestra por vía intraperitoneal a grupos de ratones libres de infección. Si los ratones no mueren se les observa durante seis semanas y luego se analiza sangre de la cola o del corazón de estos animales en busca de anticuerpos, específicos. El diagnóstico se confirma por la demostración de quistes en el cerebro de los ratones inoculados.

La infección de células en el cultivo tisular también es útil y rápida (3 a 6 días), y la PCR amplifica el DNA de *T. gondii*, aunque esto podría requerir un laboratorio con experiencia en el procedimiento.

D. Serología

La prueba del colorante de Sabin-Feldman depende de la aparición en 2 a 3 semanas de anticuerpos que hacen impermeable al azul de metileno alcalino a la membrana del *T. gondii* vivo y cultivado en el laboratorio, de modo que los microorganismos no se tiñen en presencia de suero positivo. Esta prueba se ha reemplazado por las pruebas de hemaglutinación indirecta en látex (IHA), indirecta de anticuerpos fluorescentes (IFA) y ELISA. Ninguna de estas pruebas expone al personal técnico al peligro de los microorganismos vivos, como sucede en las pruebas con colorante. Una prueba de FC puede ser positiva (título 1:8) desde el primer mes después de la infección, pero tiene poco valor en muchas infecciones crónicas. Las pruebas de IFA, aglutinación directa y la cutánea para toxoplasmina se utilizan de forma rutinaria para propósitos de diagnóstico. La prueba intracutánea de Frenkel es útil para encuestas epidemiológicas. Para mayor información véase Goldsmith (2003).

Inmunidad

Se puede desarrollar cierta inmunidad adquirida en el curso de la infección. Los títulos de los anticuerpos en las madres, detectados en sangre o leche, tienden a descender antes de pocos meses. Sin embargo, el hecho de que la infección prenatal se limite a lactantes nacidos de madres expuestas por primera vez durante el embarazo sugiere fuertemente que la presencia de anticuerpos circulantes es al menos parcialmente protectora. Las enfermedades por inmunodeficiencia (p. ej., SIDA), fármacos inmunosupresores o cambios en la resistencia del huésped pueden causar que la infección crónica con *Toxoplasma* se convierta en toxoplasmosis aguda fulminante.

Tratamiento

La infección aguda puede tratarse con una combinación de pirimetamina y sulfadiazina o trisulfapirimidina. Los fármacos alternativos incluyen espiramicina, clindamicina, trimetoprim-sulfametoxazol y otras sulfonamidas. Para uso

en el embarazo se recomienda la espiramicina (Rovamycin®), administrada continuamente hasta el parto.

Epidemiología, prevención y control

Desde hace mucho se identificó la infección transplacentaria del feto. Se ha inculcado a los gatos domésticos en la transmisión del parásito a humanos: la infección se transmite por un oocisto parecido a la *Isospora* y encontrado sólo en heces de gatos y animales interrelacionados. Los roedores pueden participar en la transmisión, puesto que albergan en sus tejidos quistes infectantes que pueden ser ingeridos por gatos. Evitar el contacto humano con las heces del gato es claramente una medida de control importante, en particular para las embarazadas con pruebas serológicas negativas. Puesto que los oocistos en general tardan 48 h para convertirse en infectantes, la limpieza diaria de las heces de gatos (desechadas en lugar seguro) puede evitar la transmisión. Sin embargo, las embarazadas deben evitar todo contacto con gatos, en particular con los cachorros. Una fuente igualmente importante de exposición para humanos es la carne cruda o mal cocida, la cual con frecuencia contiene quistes infectantes en los tejidos. Los humanos (y otros mamíferos) pueden infectarse con oocistos de las heces de gatos o por quistes en los tejidos de carne cruda o mal cocida. Congelar la carne a -20 °C durante 48 h o calentarla a 50 °C durante 4 a 6 min proporciona esterilización. La limpieza de la cocina, el lavado de las manos después de tocar carne cruda y evitar a los gatos y sus heces son esenciales durante el embarazo. Se recomienda la detección serológica periódica de anticuerpos IgG e IgM para toxoplasma. Para más información véase Cook *et al.* (2003).

MICROSPORIDA

Los *Microsporida*, comúnmente denominados microsporidios, constituyen un orden del filo *Microspora*, el cual es un conjunto único de parásitos intracelulares caracterizado por una espora unicelular con un filamento polar tubular enrollado en forma de resorte a través del cual el esporoplasma se descarga forzadamente en la célula huésped. El parásito invasor crece en un esquizonte esférico u oblongo, con dos, ocho o más núcleos que se convierten en merozoitos separados, lo que va seguido por una serie compleja de divisiones sexuales y asexuales que conducen a la producción de más esporas. La identificación de especies y géneros se basa en las morfologías de las esporas, núcleos y filamentos polares enrollados bajo microscopía electrónica. Se ha empleado con éxito una tinción azul tricrómica modificada para detectar microsporidios en orina, heces y muestras nasofaríngeas. Todas las clases de vertebrados (en especial peces) y muchos grupos de invertebrados (sobre todo insectos) están prácticamente infectados en todos los tejidos.

La transmisión tiene lugar por ingestión de esporas en el agua o los alimentos. Es común la transmisión transplacentaria. En humanos, pocos casos eran conocidos hasta que se

observaron infecciones intestinal, oftálmica y sistémica en pacientes con SIDA; en la actualidad, los microsporidios se reconocen cada vez más como un grupo de parásitos oportunistas, ampliamente propagados, abundantes y no patógenos en personas con sistema inmunitario íntegro, pero una amenaza continua para inmunodeficientes. A menudo se presentan junto con *Cryptosporidium* en pacientes con SIDA.

En personas inmunodeficientes se han observado las infecciones microsporidiales (sobre todo pacientes con SIDA) siguientes (Ortega *et al.*, 1993):

Infección ocular

A. *Encephalitozoon hellum*

El tratamiento es a base de fumagilina (Fumidil-B®) en gotas oculares y tal vez itraconazol.

B. *Vittaforma corneae* (*Nosema corneum*)

Ningún tratamiento es eficaz; la queratoplastia puede ser adecuada.

C. *Nosema oculorum*

Observada en pacientes VIH-negativos; sin tratamiento.

Infección intestinal

A. *Enterocytozoon biveusi*

La espora infectante diminuta (1 × 1.5 µm) podría pasar a los pulmones desde el intestino por aspiración. El tratamiento a base de ocreotido (Sandostatín®) o albendazol (Albenza®).

B. *Encephalitozoon intestinalis*

(También en la vesícula biliar y el riñón, donde se desarrolla una nefritis intersticial, en cuyo caso las esporas se diseminan en la orina). El tratamiento es con albendazol (Albenza®). En la actualidad, *Septata intestinalis* se designa como *Encephalitozoon intestinalis*.

Infección diseminada

No se ha establecido tratamiento para infecciones por *Encephalitozoon hellum*, *Nosema connori*, *Encephalitozoon cuniculi* o *Trachipleistophora hominis*, que se presenta principalmente, en pacientes con SIDA.

HELMINTOS*

El cuadro 46-4 presenta las principales enfermedades causadas por helmintos. Se pueden detectar huevecillos en las

* En las figuras 46-14, 46-15 y 46-16 se muestran huevecillos en las heces; en el cuadro 46-5 se caracterizan las microfilarias en sangre y tejidos.

Cuadro 46-4. Enfermedades causadas por helmintos

C = cestodo (gusano plano)		N = nematodo (gusano redondo)		T = trematodos (duelas)	
Enfermedad y parásito	Localización en el huésped	Modo de transmisión	Distribución geográfica	Tratamiento de elección	
Angiostrongiliasis; Monopiricerciasis eosinofílica <i>Angiostrongylus cantonensis</i> (larvario) (N); gusano pulmonar de la rata	Larvas en las meninges	Ingerir camarones crudos, babosas de jardín, caracoles acuáticos y de tierra; lechuga infectada	Local en el Pacífico, especialmente el suroeste	Mebendazol	
Angiostrongiliasis; angiostrongiliasis intestinal <i>Angiostrongylus costaricensis</i> (N); gusano de las arterias de la rata blanca	Etapas en la pared del intestino, especialmente el apéndice; también en ganglios linfáticos regionales en arterias mesentéricas	Ingestión de caracoles y babosas, infectadas ensaladas de vegetales contaminados	Centroamérica, Brasil	Escisión quirúrgica, tiabendazol	
Anisakiásis <i>Anisakis</i> , <i>Phocanema</i> , otros géneros relacionados (larvario) (N)	Larvas en las paredes del estómago y del intestino, rara vez penetran	Comer pescados marinos crudos o en salmuera	Alrededor de la cuenca del Pacífico (Japón, California, Hawaii) entre personas que comen pescado crudo	Escisión quirúrgica, por lo general de corta duración	
Ascariasis <i>Ascaris lumbricoides</i> (N), lombriz común	Intestino delgado; larvas en los pulmones	Ingerir huevecillos viables procedentes de suelos o alimentos contaminados con heces	En todo el mundo, muy común	Pamoato de pirantel, mebendazol	
Capilarinosis <i>Capillaria philippinensis</i> (N)	Intestino delgado (muoco)	Pescados marinos mal cocidos	Filipinas, Tailandia	Mebendazol, albendazol	
Clonorchiasis <i>Clonorchis sinensis</i> (T), fasciola hepática china	Hígado (conductos biliares)	Pescados de agua dulce mal cocidos	China, Corea, Indochina, Japón, Taiwán	Praziquantel, albendazol	
Cisticercosis (gusano quístico) <i>Taenia solium</i> (larvario) (C)	Subcutáneos; ojo, meninges, cerebro, etc.	Ingestión de huevecillos o regurgitación de proglótidos grávidos procedentes del aparato digestivo inferior	En todo el mundo	Escisión quirúrgica, albendazol, praziquantel	
Dracunculiasis <i>Dracunculus medinensis</i> (N), gusano de Guinea	Subcutáneos; por lo general pierna, pie	Beber agua con <i>Cyclops</i>	África, Arabia a Pakistán; localmente en otra parte de Asia	Extracción mecánica o quirúrgica, mebendazol, metronidazol	
<i>Echinococcus multilocularis</i> (larval) (C), quistes hidatídicos alveolares (multilocular)	Hígado	Tramposos de zorros, por contacto de materia fecal en el pelaje	Regiones templadas del norte con ciclo zorro-ratón campestre	Escisión quirúrgica, posiblemente albendazol o mebendazol	

Cuadro 46-4. Enfermedades causadas por helmintos (continúa)

C = cestodo (gusano plano)			N = nematodo (gusano redondo)		T = trematodos (duelas)	
Enfermedad y parásito	Localización en el huésped	Modo de transmisión	Distribución geográfica	Tratamiento de elección		
Equinocosis, hidatidosis <i>Echinococcus granulosus</i> (lar- val) (C), quiste hidatídico unicelular	Hígado, pulmón, cerebro, peritoneo, huesos largos, riñón	Contacto con perros, zorros, otros cándidos; huevecillos de las heces	En todo el mundo pero local; áreas donde se crían ovejas	Aspiración y escisión quirúrgica, albendazol		
Enterobiasis <i>Enterobius vermicularis</i> (N), tricocéltalo	Ciego, colon (luz)	Anal-oral; autocontaminación y rein- fección interna	En todo el mundo	Pamoato de pirantel, mebenda- zol, albendazol		
Fascioliasis <i>Fasciola hepatica</i> (T), fasciola hepática de la oveja	Hígado (conductos biliares, después de la migración a través del parén- quima)	Berros, vegetales acuáticos	En todo el mundo, especialmente re- giones donde se crían ovejas	Bitionol, triclabendazol		
Fasciolopsiasis <i>Fasciolopsis buski</i> (T), fasciola intestinal gigante	Intestino delgado	Vegetales acuáticos	Este y suroeste de Asia	Praziquantel		
Filiarias <i>Wuchereria bancrofti</i> , <i>Brugia</i> <i>malayi</i> (N), filaria humana	Ganglios linfáticos; microfilarias en la sangre	Picadura de mosquitos; varias espe- cies	Regiones tropicales y subtropicales, muy local pero diseminada	Dietilcarbamazina, ivermectina (experimental)		
Filiariasis oculta Especies de <i>Dirofilaria</i> (N), gu- sano del corazón	Pulmones (larvas)	Mosquitos infectados	India, sureste de Asia	Dietilcarbamazina, mebendazol, ivermectina o sin tratamiento		
Gnatostrongilosis <i>Gnathostoma spinigerum</i> (N), gusano del estómago de la rala	Subcutánea, migratoria	Pescado mal cocido	Este y suroeste de Asia	Escisión quirúrgica, albendazol		
Heterofiliasis <i>Heterophyes heterophyes</i> (T), fasciola intestinal de los pe- ces de consumo humano	Intestino delgado	Pescado mal cocido (cabezudo)	China, Corea, Japón, Taiwán, Israel, Egipto	Praziquantel		
Larva migrans: Cutánea, erupción migratoria <i>Ancylostoma braziliense</i> y otros anquilostomas de ani- males domésticos (N)	Subcutánea, larvas migrantes	Contacto con suelo contaminado por heces de perro o de gato	En todo el mundo	Triabendazol, ivermectina		
Visceral Especies de <i>Toxocara</i> (N), lombrices del gato y del perro	Hígado, pulmón, ojo, cerebro, otras vísceras; larvas migratorias	Ingestión de tierra contaminada por heces de perro o de gato	En todo el mundo	Dietilcarbamazina, mebendazol, albendazol		
Loiasis <i>Loa loa</i> (N)	Subcutánea, migratoria; superficie del ojo. Microfilarias en la sangre	Picadura de tabanos, Chrysops	África ecuatorial	Extracción quirúrgica, dietilcarb- amazina o sin tratamiento		

Cuadro 46-4. Enfermedades causadas por helmintos (continúa)

C = cestodo (gusano plano)			N = nematodo (gusano redondo)		T = trematodos (duelas)	
Enfermedad y parásito	Localización en el huésped	Modo de transmisión	Distribución geográfica	Tratamiento de elección		

Cuadro 46-4. Enfermedades causadas por helmintos (continúa)

C = cestodo (gusano plano)			N = nematodo (gusano redondo)		T = trematodos (duelas)	
Enfermedad y parásito	Localización en el huésped	Modo de transmisión	Distribución geográfica	Tratamiento de elección		
Enfermedad por cestodos (véase también Cisticercosis, Hidatidosis, Equinococosis, Esparganosis); teniasis <i>Dipyllobothrium latum</i> (C), ampliamente distribuida, solitaria de los peces	Intestino delgado	Peces de agua dulce no cocidos	Alaska, este de Canadá, región de los Grandes Lagos, noroeste de Florida, partes de Sudamérica; Europa del norte; Mediterráneo oriental, antigua Unión Soviética (Maidlen), Japón; Australia	Praziquantel		
<i>Dipylidium caninum</i> (C), solitaria de perro	Intestino delgado	Ingestión de moscas machacadas; plajos de mascotas	En todo el mundo	Praziquantel		
<i>Hymenolepis diminuta</i> (C), solitaria de rata	Intestino delgado	Indirectamente de ratas, ratones, por medio de insectos infectados	En todo el mundo	Praziquantel		
<i>Hymenolepis nana</i> (C)	Intestino delgado	Transferencia anal-oral de huevecillos o infección de insectos infectados; reinfección interna	En todo el mundo	Praziquantel		
<i>Taenia saginata</i> (C), solitaria del ganado bovino	Intestino delgado	Carne de res no cocida	En todo el mundo	Praziquantel		
<i>Taenia solium</i> (C), solitaria de cerdo (véase también cisticercosis)	Intestino delgado	Carne de puerco no cocida	En todo el mundo	Praziquantel		
Equinostomiasis <i>Echinostoma ilocanum</i> (T)	Intestino delgado	Caracoles de agua dulce	Sureste de Asia	Praziquantel		
Esparganosis <i>Sipronema mansonioides</i> ; <i>Sipronema erinacei</i> (larvas) (C); larva pseudotífida o esparganosis de ranas, serpientes, algunas aves y mamíferos (guirinos adultos en felinos o cánidos)	Horrida intraorbital, otras horridas o contusiones si se emplea como cataplasma; tejidos subcutáneos si proceden de la ingestión de procercoides o espargano	En entomofauna tridionómica como carne cruda de rana infectada; agua de beber con copepodos infectados; ingestión de ranas, serpientes, renacuajos crudos	Orlonto; en ocasiones otros países, incluyendo Norte y Sudamérica	Extracción quirúrgica		
Esquistosomiasis <i>Schistosoma haematobium</i> (T), esquistosoma o gusano bilharzia, duela vesicular sanguínea	Vasos venosos de la vejiga urinaria, intestino grueso; hígado	Cercarias (larva) penetran en la piel en aguas infestadas por caracoles	África, extensamente; Madagascar; Arabia hasta Líbano	Praziquantel		
Estenotriodiasis <i>Strongyloides stercoralis</i> (N), ascáride	Duodeno, yeyuno; larvas a través de la piel, pulmones	A través de la piel y (raras veces) por autorreinfección interna	En todo el mundo	Tiabendazol (experimental), ivermectina		

Cuadro 46-4. Enfermedades causadas por helmintos (continúa)

Cuadro 46-4. Enfermedades causadas por nemátodos (continuación)					
C = cestodo (gusano plano)		N = nematodo (gusano redondo)		T = trematodos (duelas)	
Enfermedad y parásito	Localización en el huésped	Modo de transmisión	Distribución geográfica	Tratamiento de elección	
Mansoneliasis <i>Mansonella ozzardi</i> (N), (no patógena), filaria de Ozzard	Cavidades del cuerpo, microlitias en la sangre	Picadura de los jejenes <i>Culicoides</i>	Argentina, costa norte de Sudamérica, islas del Caribe, Panamá, Yucatán	Ivermectina o sin tratamiento	
<i>Mansonella persiana</i> (N) (<i>Dipetalonema persiana</i>) (¿no patógena?)	Cavidad peritoneal y otras; microlitias en la sangre	Picadura de los jejenes <i>Culicoides</i>	África ecuatorial; costa norte de Sudamérica, Argentina, Panamá, Trinidad	Mebendazol o sin tratamiento	
Meliorioninosis <i>Meiostrongylus yokogawai</i> (T), duela intestinal de peces en humanos	Intestino delgado	Pescado crudo	Igual que para <i>Heterophyes</i> , ndo-mis de la antigua URSS, Balcanos, España	Praziquantel	
Oncocefrosis <i>Onchocerca volvulus</i> (N), guisano formador de nódulos o cegador	Subcutáneas; microlitias en la piel, ojos	Picadura de mosca negra <i>Simulium</i>	África ecuatorial; Centro y Sudamérica	Cirugía, ivermectina	
Opisthorquiasis <i>Opisthorchis felinus</i> , <i>Opisthorchis viverrini</i> (T) duela hepática de Asia	Hígado (conductos biliares)	Pescado crudo	Europa del este, antigua URSS, Tailandia	Praziquantel	
Paragonimiasis <i>Paragonimus westermani</i> (T), duela pulmonar (varias especies)	Pulmón (pares de gusanos en quistes), cerebro, otros sitios	Cangrejo y otros crustáceos de agua dulce crudos	Este y sureste de Asia; África central; Sudamérica; animales en Norteamérica	Praziquantel, bitionol	
<i>Schistosoma japonicum</i> (T), duela sanguínea japonesa	Vasos venosos del intestino; hígado	Cercarias (larvas) penetran en la piel en aguas infestadas por caracoles	China, Filipinas, Japón; tal vez Tailandia	Praziquantel	
<i>Schistosoma mansoni</i> (T), duela sanguínea de Manson	Vasos venosos del colon, recto; hígado	Cercarias (larvas) penetran en la piel en aguas infestadas por caracoles	África hasta el Cercano Oriente; partes de Sudamérica; regiones tropicales y subtropicales del Caribe	Praziquantel, oxamniquina	
<i>Schistosoma mekongi</i> (T), duela sanguínea de Mekong	Vasos venosos del intestino; hígado	Cercarias (larvas) penetran en la piel en aguas infestadas por caracoles	Delta de Mekong de Tailandia (isla Khong)	Praziquantel	
Tricostongiliasis Especies de <i>Trichostrongylus</i> (N)	Intestino delgado	Ingestión de alimentos contaminados con heces o suelo que llevan la tercera etapa infectante; contacto con heces de herbívoros	Europa del este, antigua URSS, Irán	Pamoato de pirantel, mebendazol, albendazol	
Tirquinosis <i>Trichinella spiralis</i> (N), gusano triquina	Larvas en músculo estriado (enrolladas dentro de células fibrosas enrolladas)	Carnes de puerco no cocidas	En todo el mundo	Mebendazol (además de esteroides para la infección grave)	
<i>Trichuris trichiura</i> (N), Tricuris	Ciego; colon	Ingestión de huevecillos a partir de suelo contaminado con heces	En todo el mundo	Mebendazol, albendazol	

heces (orina, en el caso de *Schistosoma haematobium*; ocasionalmente en el *Schistosoma mansoni*, en especial con infecciones mixtas; y a veces en el *Schistosoma japonicum*); usualmente se requiere la concentración por sedimentación mediante centrifugación en sulfato de zinc u otras técnicas (en especial para huevecillos operculados y de esquistosoma; véase García y Bruckner, 1997). Los huevecillos de *Enterobius* pueden recolectarse directamente en los bordes del ano con cinta adhesiva o con el extremo de una espátula.

NEMATODOS (FIGURA 46-14)

Los miembros del filo *Nemata*, clase *Nematoda*, constituyen un grupo ricamente variado y bastante adaptable, que contiene un enorme número de pequeños gusanos los cuales ocupan prácticamente todo hábitat (terrestre, marino y de agua dulce) en el cual pueda sobrevivir un microorganismo multicelular. Sin embargo, se les conoce mejor (aunque no más significativos biológicamente) en el campo de los parásitos. Los nematodos infectan casi todas las especies de plantas y son abundantes en toda clase de huéspedes vertebrados. Los insectos y otros invertebrados están fuertemente parasitados. En huéspedes vertebrados, los nematodos parasitan varios tejidos y órganos y suelen alcanzar un tamaño mucho mayor que sus homólogos que viven en libertad.

Los nematodos pueden parasitar cualquier huésped intermediario o final. En el huésped intermediario se encuentran gusanos en etapas de desarrollo juvenil y larvario,

mientras en el huésped final o definitivo los gusanos se presentan en la etapa adulta o reproductiva sexual. En algunos casos, el mismo huésped sirve para ambas etapas, como sucede con muchos huéspedes mamíferos de la *Trichinella*, el agente de la triquinosis. En la prehistoria, los humanos víctimas del canibalismo o devorados por animales depredadores quizá pudieron servir como huéspedes intermediarios y finales, pero en la actualidad la triquinosis no puede transmitirse por éstos (es decir, los humanos son huéspedes finales para la *Trichinella*).

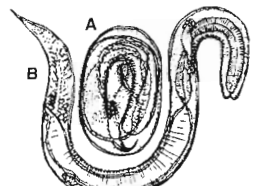
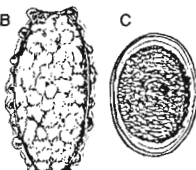
Las características de los grupos de nematodos que les permiten adaptarse a una existencia como parásitos incluyen una cutícula resistente no celular que se desprende cuatro veces durante la ontogenia; músculos longitudinales que les permiten un movimiento exploratorio penetrante; un sistema digestivo completo bien adaptado para ingerir activamente el contenido intestinal del huésped, células, sangre, o productos de desdoblamiento de las células; y un sistema reproductor altamente desarrollado con sexos separados. Los huevecillos y las cuatro etapas larvarias están bien adaptados para sobrevivir en el ambiente externo o en varios huéspedes intermediarios. Por consiguiente, entre los nematodos han evolucionado muchos patrones complejos del ciclo vital, como se ilustra bien con aquellos encontrados en el humano. Una docena de especies de nematodos son parásitos humanos significativos (cuadro 46-4, nematodos marcados con N). Otra docena o más de especies adicionales de nematodos son parásitos ocasionales zoonóticos humanos (o sea, parásitos de animales capaces de infectar al humano), la mayor parte de los cuales son incapaces de concluir su ciclo biológico en el ser humano. Ejemplos son los



Ancylostoma duodenale o *Necator americanus*, nótese la forma, cubierta delgada, etapa de 4 a 8 células.



Ascaris lumbricoides. A: huevo fecundado sin embrión; B: huevo no fecundado; C: huevo fecundado descortificado. Nótese la cubierta tuberculada protectora gruesa en A.



Strongyloides stercoralis. A: Huevo embrionado (poco común en las heces); B: larva rhabditiforme (observada por lo general en las heces).



Trichostrongylus orientalis. Huevo no embrionado. (poco frecuente en humanos, excepto en regiones específicas; p.ej., Iran.)



Trichuris trichiura. Huevo no embrionado con doble tapón.



Enterobius vermicularis. Huevo embrionado. Nótese el aplanamiento sobre un lado, cubierta adelgazada. Depositado en la región perianal.

Figura 46-14. Huevecillos de nematodos (400 x). (Los círculos simples representan el tamaño de los eritrocitos.)

Cuadro 46-5. Microfilarias

Filáride	Enfermedad	Distribución	Vectores	Microfilaria		
				Vaina	Núcleo de la cauda	Periodicidad ¹
<i>Wuchereria bancrofti</i>	Filariasis bancroftiana y malaya; linfangitis, hidrocele, elefantiasis	En todo el mundo desde 41° N hasta 28° S	Culicidae (mosquitos)	+	No hasta el extremo	Nocturno o no periódico
<i>Brugia malayi</i>		Región oriental hasta Japón	Culicidae (mosquitos)	+	Dos distintos	Nocturno o subperiódico
<i>Loa loa</i>	Loiasis; inflamación de Calabar; gusanos conjuntivales	África occidental y central	<i>Chrysops</i> , tábano del venado, tábano del mango	+	Extendido hasta el extremo	Diurno
<i>Onchocerca volvulus</i>	Oncocercosis: nódulos cutáneos, ceguera, dermatitis, ingule colgante	África, centro y Sudamérica	<i>Simulium</i> , jején búfalo, mosca negra	-	No hasta el extremo	No periódico en líquidos de la piel
<i>Mansonella (Dipetalonema) perstans</i>	Mansoneliasis o dipetalonemiasis (trastornos menores)	África y Sudamérica	Culicoides, jején picador	-	Extendido hasta el extremo	Nocturno o diurno, o no periódico
<i>Mansonella streptocerca</i>	Generalmente no patógena	África occidental y central	Culicoides, jején picador	-	Extendido hasta el extremo	Sólo en la piel, no periódico
<i>Mansonella ozzardi</i>	Mansoneliasis de Ozzard (benigna), en ocasiones hidrocele	América central y Sudamérica	Culicoides, jején picador	-	No hasta el extremo	No periódico

¹Las microfilarias se encuentran en la sangre periférica (en frotis sanguíneos) sólo en la noche (periodicidad nocturna); principalmente en la noche o durante las horas del crepúsculo (subperiodicidad); sobre todo durante las horas del día (periodicidad diurna); o sin distinción clara (no periódicos). La periodicidad parece correlacionarse con los hábitos hematológicos del principal insecto vector en áreas particulares de transmisión de la filaria.

agentes de la angiostrongiliasis, anisakirosis, difilariasis, gnathostomiasis y larva migrans cutánea y visceral. (Se debe consultar el cuadro 46-4 junto con los breves análisis siguientes de cada uno de los filos de helmintos con importantes especies parasitarias infecciosas para los humanos).

Por lo general, los parásitos nematodos de humanos infectan a una cantidad enorme de huéspedes. Más de 1 000 millones de personas alojan *Ascaris lumbricoides*, gusano redondo de los humanos; 600 a 800 millones padecen anquilostomiasis (*Ancylostoma duodenale* o *Necator americanus*); cientos de millones están infectados por filarias (principalmente *Wuchereria bancrofti*); e igual número padecen oxiuriasis (*Enterobius vermicularis*).

Los patrones de infección varían ampliamente. Los nematodos intestinales infectan al humano a través de los alimentos, el agua y el suelo. Los *Ascaris* y el *Trichuris trichiura* (tricocéfalo) infectan por medio de huevecillos muy resistentes a la desecación y otros factores ambientales; el anquilostoma y el *Strongyloides stercoralis* (pequeño gusano redondo de los humanos) por medio de larvas infectantes de tercera etapa, las cuales penetran en la piel: la *Trichinella spiralis* (gusano triquina) infecta mediante la carne mal cocida, casi siempre de cerdo, que contiene larvas enquistadas. El oxiuro es único entre los nematodos humanos porque sus huevecillos son viables poco después de ser depositados directamente sobre la piel perianal por la hembra grávida. Los huevecillos viables pueden entonces desprenderse durante el rascado de la superficie cutánea pruriginosa, pasar a los de-

dos e ingerirse accidentalmente o pasarse a otros, sobre todo niños, a través de la ropa o partículas de materia fecal. Por consiguiente, son parásitos principalmente urbanos, contrario a otros nematodos intestinales que llegan al suelo como huevecillos o larvas en las heces o las aguas negras y que deben sufrir varios periodos de desarrollo antes de convertirse en infectantes para los humanos; por tanto, son parásitos principalmente de áreas rurales. El gusano triquina, *Trichinella*, sólo es infectante como larva enquistada en carne portadora de quistes.

Entre los nematodos filaria que afectan los tejidos, la *W. bancrofti* y la *Brugia malayi* son transmitidas por mosquitos; la *Loa loa*, un gusano que parasita los ojos (algunas veces es patógeno), por moscas del género *Chrysops*; la *Onchocerca volvulus* (temible agente de la ceguera de los ríos) por moscas del género *Simulium*; y las filarias de los géneros *Mansonella*, relativamente no patógenas, por la picadura de varios mosquitos o jejenes de los géneros *Culicoides*. La oncocerciasis es causa importante de ceguera, sobre todo en África occidental y central. Los grandes esfuerzos por controlar esta enfermedad efectuados por la OMS y otras agencias auxiliares han logrado un descenso significativo en la prevalencia de dicho padecimiento en África occidental. La filaria lejanamente emparentada *Dracunculus medinensis* tiene un ciclo acuático a través de copépodos ("pulgas de agua", un amplio grupo de microcrustáceos acuáticos), los cuales ingieren larvas liberadas en gran número de ampollas de la piel que se rompen al sumergirse en agua fría. Cuando

se ingiere agua contaminada de manera inadvertida con copépodos infectados, se transmiten al humano larvas desarrolladas de la filaria infectante. Después de un año de recorrido por todos o casi todos los sistemas del organismo, los gusanos maduran y se aparean. Las hembras posteriormente viajan a la piel—generalmente de las extremidades inferiores—donde inducen la formación de ampollas muy cerca de la boca del gusano, comúnmente localizadas en el pie o en el tobillo. En un año, aproximadamente, maduran y se aparean. Las hembras viajan entonces a la piel (por lo general la parte inferior de la pierna) donde inducen la formación de ampollas; las ampollas están una vez más llenas de larvas listas para infectar copépodos. *D. medinensis* produce una amplia variedad de cambios patológicos, según el sitio infectado por el gusano adulto y la respuesta del huésped a la presencia de los parásitos o a la extirpación de los gusanos. La enfermedad causada por filarias es consecuencia de infecciones secundarias. Estas infecciones a veces se deben a un proceso séptico en el punto de la ampolla cutánea donde surge el extremo anterior del gusano y sus larvas. Los gusanos adultos muertos (o sus fragmentos) también pueden iniciar infección grave en la piel, produciendo gangrena o anafilaxia. Estos gusanos son causa importante de debilidad y pérdidas económicas en África, donde los esfuerzos para controlarlos dirigidos a erradicarlos se encuentran en curso hoy día y la completa erradicación es una posibilidad alcanzable en unos cuantos años. India y Pakistán se han liberado de este antiguo flagelo, y la endemidad persiste principalmente en Sudán.

Los parásitos intestinales, en general bien adaptados al huésped humano (comprobado por el enorme número de huéspedes infectados), son relativamente tolerados, excepto cuando se presentan en gran número (en cuyo caso los niños de corta edad son los más vulnerables). En los niños se ha demostrado que la ascariasis y la trichuriasis causan desnutrición y retardo del crecimiento debido al gran número de parásitos y a las frecuentes re infecciones, una gran pre-ocupación de salud en poblaciones desnutridas. Esto también sucede con la uncinariasis, cuya capacidad para succionar sangre puede causar anemia grave; con el *Strongyloides* que puede agobiar a un huésped inmunodeficiente o vulnerable, por su capacidad para producir reinfección interna en humanos; y con *Trichinella* que también se multiplica dentro del huésped (pero sólo hasta la etapa larvaria enquistada) y puede inducir una reacción tóxica mortal después de una infección inicial intensa. Por fortuna, una fuerte reacción inmunitaria evita la recidiva de la triquinosis grave.

El *Strongyloides stercoralis* tiene una adaptación epidemiológica única que causa peligro de infección mucho mayor a partir de suelo contaminado con heces. Las larvas que pasan sobre el suelo (después de la incubación en el intestino del humano) forman gusanos adultos de vida libre, que producen varias generaciones de gusanos en el suelo, cuyas larvas aumentan en gran medida la población de gusanos y la probabilidad de invadir la piel humana e iniciar la infección. Las larvas también pueden infectar a los humanos sin reproducción externa (comparable con el ciclo de las uncinariasis). Por tanto, utilizan un ciclo de vida directo, o bien, retrasan la infección cuando abunda el alimento bacteriano y, por consiguiente, incrementan su potencial de infección mediante este ciclo indirecto. Algo que

todavía es más importante es que los estrongeloides producen una reinfección interna o autorreinfección, como se mencionó antes, lo que posibilita que estos diminutos nemátodos sostengan una infección durante muchos años y, en caso de inmunosupresión, producen una infección fatal fulminante.

Las características patológicas de los nemátodos que infectan los tejidos guardan relación estrecha con la respuesta del huésped. La elefantiasis (engrosamiento mórbido de las extremidades, glándulas mamarias y genitales) es una respuesta inmunopatológica a la infección prolongada por la filaria *Wuchereria* o *Brugia*. Los gusanos adultos embebidos en los tejidos linfoides son la causa principal de estas reacciones inflamatorias y fibróticas masivas. Un cuadro patológico mucho más común consiste en un crecimiento menor de estos tejidos, acompañado por linfangitis, linfadenitis y linfedema graves. En el caso de los oncocercos, correctamente llamados los "gusanos cegadores", son precisamente las microfilarias, que en realidad son embriones microscópicos alargados, la causa de la mayor parte del daño. Las microfilarias emigrantes, exclusivamente halladas en los líquidos intersticiales de piel y tejido subdérmico (no en el torrente sanguíneo) modifican la pigmentación de la piel y producen la pérdida de las fibras elásticas, conduciendo a la "piel colgante", a otras alteraciones en la piel y a prurito intenso, a veces intratable e intolerable. Mucho más grave es la ceguera que afecta a millones de personas, principalmente en África (sobre todo varones). La pérdida de la vista se desarrolla a través de muchos años por la acumulación de microfilarias en el humor vítreo, ya que las microfilarias no son hematógenas y pueden concentrarse y permanecer en los líquidos del ojo. Visión borrosa, fotofobia y en último término daño a la retina, resultan en ceguera incurable. Se desconoce la razón de la diferencia entre los sexos respecto de la prevalencia de la ceguera por oncocercosis.

El tratamiento contra los gusanos intestinales suele ser satisfactorio al utilizar mebendazol (Vermox[®]) pamoato de pirantel (Antiminth[®]) y otros fármacos (cuadro 46-4). El mebendazol (Vermox[®]) o el albendazol (Albenda[®]), y en casos graves se utilizan los esteroides (estos últimos con éxito moderado) contra la triquinosis. Se ha empleado dietilcarbamazina (Hetrazan[®]) para destruir microfilarias circulantes, pero las reacciones tóxicas inmunitarias pueden ser graves. La ivermectina (Stromectol[®]) es muy eficaz en el tratamiento de la oncocercosis temprana y también puede ser eficaz contra otras filarias (véase Medical Letter, 1998).

TREMATODOS (Figura 46-15)

La clase *Trematoda* del filo Platyhelminthes (gusanos planos) consta de gusanos sinciciliales de cuerpo blando, comúnmente denominados lombrices del ganado leñero, por lo general aplanados y en forma de hoja o alargados, con un par de ventosas y un intestino bipartido terminado en un extremo ciego sin ano. Los lombrices poseen músculos circulares y longitudinales; carecen de la cutícula característica de los nemátodos y en vez de ella poseen un epitelio celular. Un complejo sistema reproductor llena la mayor parte del cuerpo del gusano.

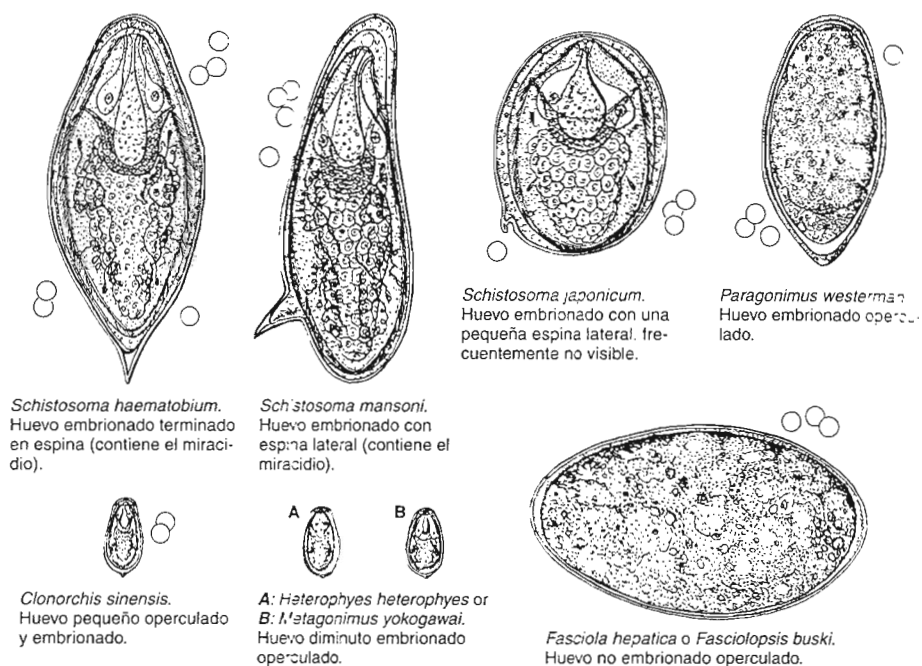


Figura 46-15. Huevecillos de trematodos según se observan en las heces. (400 x) (Los círculos simples representan el tamaño de los eritrocitos.)

La morfología, el ciclo biológico y los sitios de infección difieren notablemente entre las muchas especies, pero la distinción más clara es entre las lombrices hermafroditas ("típicos") y los esquistosomas con sexos separados. Estos últimos son dioicos y presentan fuerte dimorfismo sexual: carecen de una etapa enquistada o de un segundo huésped intermediario. Estos esquistosomas causan infección al penetrar por la piel y no requieren ser ingeridos por un huésped intermediario o de transporte. Los esquistosomas están morfológicamente e inmunitariamente especializados para residir en el sistema vascular del humano o de otros huéspedes finales. Por el contrario, todas las otras lombrices que parasitan humanos son monoicas y se enquistan en un segundo huésped intermedio o algún medio de transferencia (como la vegetación) para alcanzar al humano. En éste se desarrolla la fasciola sexualmente madura adulta, no esquistosoma, en el intestino, hígado o pulmón.

Todos los trematodos sufren una fase reproductora asexual compleja a través de varias generaciones distintas de etapas larvarias en un caracol, su primer huésped intermedio. El ciclo vital de los trematodos de humanos se inicia típicamente por huevecillos que infestan aguas dulces a través de las deyecciones del cuerpo. Los huevecillos se desarrollan, crían y liberan una primera larva ciliada, el miracidio, en

busca de un caracol. Algunos esquistosomas, como los originados en peces *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis felinus*, *Opisthorchis viverrini* y *Heterophyes heterophyes*, poseen huevecillos lo bastante pequeños para ser ingeridos por el caracol huésped. Después se alojan y desarrollan dentro de él. El caracol huésped casi siempre es muy específico de las especies de lombrices, a veces una cepa particular se limita al huésped de una región geográfica determinada. Una serie de generaciones de larvas pronto llenan la mayor parte de las vísceras del caracol, por un proceso interno de línea germinal de gemación dentro de cada larva: poliembriónismo. El miracidio se desprende de su cubierta ciliada para formar un esporocisto que desarrolla yemas internamente para formar un grupo de redias, las cuales a continuación emigran al órgano digestivo del caracol o las gónadas y producen una o más generaciones adicionales de redias. Por último se forma la etapa larvaria final, las cercarias. Estas abandonan al caracol cada día y nadan mediante rápidas sacudidas de su cola hasta localizar y enquistarse como metacercarias sobre un segundo huésped intermedio o en la vegetación, la secuencia es constante para cada especie. Por el contrario, los esquistosomas sólo pasan a través de dos generaciones, ambas de esporocistos, sin redias. La última generación de esporocistos del esquistosoma forma

un gran número de cercarias de cola bífida capaces de flotar sobre la superficie del agua por los rebordes terminales de su cola bífida. Esta capacidad incrementa la oportunidad de encontrar e invadir la piel de un humano o de otro huésped vertebrado final. Se omite así por completo la etapa enquistada metacercaria observada en el ciclo biológico de todas las otras duelas de humanos.

Dentro de estos notables patrones generales de desarrollo, cada especie de lombriz sigue su propia secuencia única programada genéticamente. El *Fasciolopsis buski*, la lombriz intestinal gigante de humanos en China, India y sureste de Asia, se enquista sobre la vegetación como el castaño de agua (*Eleocharis*) o el tribulo rojo (*Trapa*). Las metacercarias son ingeridas con las verduras crudas y luego se exquistan y maduran en el intestino. Estas lombrices intestinales se desarrollan en humanos, pero con más frecuencia en los cerdos.

La *Fasciola hepatica*, la lombriz del hígado de la oveja, se enquista similarmente sobre la vegetación acuática y puede ser ingerida inadvertidamente por humanos o a veces los quistes se desprenden por lavado de yerbas y otros vegetales sobre los cuales comúnmente se encuentran las metacercarias y se ingieren con el agua para beber. Las lombrices adultas, raras en humanos pero abundantes en ovejas, terneras y otros herbívoros, penetran al intestino y después al hígado desde la cavidad abdominal para madurar en los conductos biliares.

La lombriz del pulmón humano *Paragonimus westermani* produce un gran número de cercarias en el caracol huésped infectado; estas larvas abandonan el caracol y nadan sobre el sustrato acuático ayudados por una cola adhesiva corta, no ondulante. Las larvas localizan y penetran en un segundo huésped crustáceo intermediario, como un langostino o un cangrejo de agua dulce. Cuando se ingieren crudos los tejidos del huésped infectado (con frecuencia cangrejo machacado y filtrado para obtener un aderezo líquido para ensalada) las metacercarias se exquistan en el intestino del humano y los gusanos jóvenes emigran a los pulmones, donde suelen aparearse y encapsularse en el tejido pulmonar. Ponen huevecillos que salen de la cápsula y son transportados en las vías aéreas hacia la boca para ser expectorados o deglutidos y retomar al agua dulce en las heces.

Las lombrices restantes comunes de humanos se enquistan en varios peces de agua dulce. Los quistes se digieren y liberan en el duodeno humano. La diminuta lombriz del pez, el *H. heterophyes*, permanece en el intestino. El

mínimo daño causado a la mucosa se limita a casos de infecciones excepcionalmente intensas. Las lombrices hepáticas humanas —el *C. sinensis* (duela hepática china), el *O. felineus* (duela hepática del gato) y el *O. viverrini* (lombriz hepática del civeto [gato de algalia])— se encuentran enquistados en una gran variedad de peces de agua dulce e infectan a muchos seres humanos en Asia oriental (donde las lombrices originadas en peces son especialmente comunes) y en Europa oriental (donde se encuentran las *Heterophyes* y el *O. felineus*). Los humanos se infectan por comer pescado crudo, ahumado o en salmuera. Los gusanos jóvenes exquistados de las metacercarias en la carne del pez son digeridos, pasan al hígado a través del conducto colédoco y maduran en los conductos biliares o permanecen en el intestino (en el caso de los *Heterophyes*). La infección intensa, especialmente con el *Clonorchis*, puede producir caquexia y otras manifestaciones graves. Con mayor frecuencia se observan dolor epigástrico, edema y diarrea.

El tratamiento ha mejorado mucho gracias a la disponibilidad de praziquantel (Biltricide®), en la actualidad el fármaco de elección para el tratamiento de todas las lombrices, excepto la *Fasciola* para la cual aún se prefiere el bitionol (Bitin®).

CESTODOS

Los cestodos (figura 46-16), o gusanos acintados, son ejemplo de adaptación extrema al estilo de vida parasitario. La cadena de segmentos (estrobilos) parecidos a cintas, cada segmento posee un aparato masculino y uno femenino completos, es capaz de hazañas reproductoras prodigiosas. No tienen boca ni trazas de sistema digestivo alguno. En vez de ello, la glucosa u otros nutrientes simples predigeridos se absorben directamente del intestino del huésped a través de millones de prolongaciones submicroscópicas parecidas a cabellos o microtricos, entrelazados con las microvellosidades del huésped (borde en cepillo). Un órgano prensil delantero, eficiente y musculoso (escólex) —que consta de ventosas y en algunas especies de anillos delanteros de ganchos controlados por músculos— mantiene la posición del gusano en el intestino o le permite movimientos libres en el intestino delgado. Todas las etapas de los cestodos son parasitarias. El gusano adulto generalmente se encuentra en el intestino, en tanto que las larvas se desarrollan en los



Figura 46-16. Huevecillos de cestodos. Los huevecillos de la especie *Taenia* son indistinguibles con el microscopio. (400 x) (Los círculos simples representan el tamaño de los eritrocitos.)

tejidos de varios huéspedes intermediarios, vertebrados o invertebrados.

Tres grupos de cestodos infectan al ser humano: 1) el grupo *Taenia*, cestodos adultos gigantes (3 a 10 m de longitud), y *Echinococcus* y sus homólogos, solitaria diminuta del perro y otros carnívoros, para los cuales el humano y muchos herbívoros sirven como huésped intermediario de la forma larvaria grande (quiste hidatídico) pero nunca como huésped de gusanos adultos en el intestino; 2) el grupo *Hymenolepis* y sus formas interrelacionadas, como la solitaria de doble poro de los perros, el *Dipylidium caninum*, que se desarrolla en insectos; y 3) el extenso grupo de la solitaria de los peces *Diphyllbothrium latum*, que sigue una vía de desarrollo acuática, copépodo-pez-humano.

El primer grupo es notable por otra variante excepcional. La forma adulta de la *Taenia solium*, la solitaria del cerdo, se desarrolla en el intestino humano. La "carne de cerdo con granillo", que contiene larvas quísticas (cisticercos) del tamaño de granos de arroz, puede digerirse en el intestino humano y liberar las larvas del gusano, las cuales se desarrollan hasta gusanos adultos multisegmentados, de gran tamaño, en tres meses. A continuación se rompen segmentos llenos de huevecillos y pasan al exterior con las heces del humano. La característica es que estos huevecillos, consumidos en el agua contaminada con heces humanas, pueden incubarse en el intestino del humano y también del cerdo, huésped intermediario normal. En ambos, los huevecillos incubados liberan un embrión típico de los cestodos, el hexacanto con seis ganchos (oncosferas), que entonces puede invadir la pared del intestino y emigrar a diferentes tejidos como músculos o cerebro, para producir cisticercosis. La solitaria de los bovinos, la *Taenia saginata*, al parecer sólo es capaz de desarrollarse en humanos como gusano adulto derivado de los cisticercos desarrollados en la res. Los huevecillos de los gusanos adultos sucesivos sólo se desarrollan en el bovino y otros herbívoros y no puede causar cisticercosis humana.

Los *Echinococcus* constituyen un género de cestodos diminutos y trisegmentados que se encuentran en el intestino de perros y vacas carnívoros. Los huevecillos abandonan a estos huéspedes e infectan a los herbívoros. En el intestino del herbívoro los huevecillos se incuban y liberan hexacantos que penetran al intestino y pasan a diferentes tejidos, en especial al hígado y otras vísceras, al músculo y al cerebro. Aquí las larvas crecen formando quistes enormes llenos de líquido en los cuales se forman miles de futuros escólex ("hydatid sand"). Estos grandes quistes hidatídicos son infectantes para perros que se alimentan de las vísceras de una oveja o vaca muertas. La enfermedad desarrollada en la oveja también puede afectar a los humanos, enfermedad hidatídica o hidatidosis, y provocar ocasionalmente el desarrollo de un quiste con muchos litros de líquido. Los humanos sólo se infectan por las heces del perro. Los huevecillos de los *Echinococcus* se ingieren de manera inadvertida con pequeñas partículas de materia fecal, con frecuencia adheridas al pelaje. El perro, a su vez, puede contraer la infección sólo de un herbívoro infectado. Varias especies de equinococos infectan humanos, aunque sólo la fase de hidatide tiene la capacidad para desarrollarse completamente, no así los gusanos intestinales adultos: es decir, los humanos son únicamente los intermediarios y nunca el huésped final de este tipo de tenia.

De los miembros del segundo grupo, *Hymenolepis nana*, la tenia enana del hombre (y ratones), es probablemente la tenia más común en humanos, debido al hecho de que los huevecillos pueden acortar su ciclo normal y prescindir de la fase habitual de desarrollo en un insecto e infectar directamente a los humanos por medio de huevecillos presentes en las heces de otros humanos. En este ciclo abreviado (o directo), los huevecillos ingeridos se incuban en el intestino. Cada uno de ellos libera un hexacanto microscópico de seis ganchos, el cual penetra un vello; ahí se convierte a la misma larva (cisticercóide) que normalmente se desarrolla en un insecto durante el ciclo completo no abreviado. Después de cuatro días, las larvas salen de los vellos, regresan a la luz intestinal, se adhieren a la mucosa y maduran transformándose a gusanos adultos pequeños en el mismo huésped humano. El resto de los miembros de este género tan extenso deben obligatoriamente utilizar un artrópodo como huésped intermediario para el desarrollo del cisticercóide. Ésta es la vía indirecta de *H. nana*, con cisticercos derivados de insectos; no tiene fase de desarrollo en las vellosidades. Por consiguiente, no hay respuesta inmunitaria intensa en los humanos para una infección derivada de insectos. La infección inicial con cisticercos formados en los insectos puede, por tanto, producir gusanos cuyos huevecillos son libres de incubarse en el intestino sin abandonar al huésped y producir una autorreinfección interna. Ésta puede ser la causa de los casos ocasionales, especialmente en niños, de infección masiva con varios miles de gusanos. En casos diferentes de esta infección sumamente intensa, la enfermedad causada por estos gusanos se limita a trastornos intestinales mínimos.

La tercera categoría de cestodos se distingue morfológica y epidemiológicamente. El *D. latum*, solitaria de gran número de peces de consumo humano (y de muchos otros animales que se alimentan de pescado), alcanza un tamaño enorme, a veces excede los 10 m de longitud $\times$ 2 cm de ancho. Es única entre las solitarias de los humanos por su ciclo de vida en agua dulce que implica dos huéspedes intermediarios. El primero es un copépodo; el segundo, un pez (o una serie de peces). Los huevecillos se excretan en gran cantidad en las heces de los humanos infectados. Parte de las heces que alcanzan agua dulce se disuelven y liberan huevecillos que se incuban después de un periodo de desarrollo. Un embrión ciliado nadador, el coracido, surge de cada huevecillo. Éstos son ingeridos por los copépodos para permitir a los gusanos embrionarios cambiar a una forma de salchicha procercoide que llena gran parte de la cavidad del cuerpo del copépodo. Los copépodos infectados ingeridos por pequeños peces de agua dulce (o prácticamente cualquier pez de agua dulce) permite continuar el ciclo hasta una segunda etapa, o plerocercóide (espargono): un gusano juvenil no enquistado en la carne del pez. Esta etapa tiene la capacidad de permanecer viable a través de una serie de peces piscívoros. Con la transferencia a cada huésped, el plerocercóide emigra a la carne del nuevo pez huésped, donde permanece móvil y no enquistado. Cuando un humano u otro mamífero se alimenta con la carne cruda del pez infectado, el gusano crece con rapidez en el intestino, desarrolla una cadena de segmentos y antes de tres meses produce abundantes huevecillos —hasta 10%/día—. Una zoonosis infecciosa de los tejidos humanos en el sureste de

Asia
desa-
fere-
del g
norm
pesc-
phys-
pien-
emba-
pien-
lesio-
más
desar-
rias.
infor-
que c

palm-
del ap
D. lat-
mina
ses—
veces

igual
do mu-
tridic-
niclos-
de ele-
E

mación

1. Un
ce-
tas-
de
ba-
tio-
lias
pre-
(el
A.
B.
C.

D. F
E. E
2. El
gur-
A. E
B. 3

C. M
D. F
E. F
3. El p
de la
A. E
B. E
C. 7

Asia y América del norte y del sur. Llamada **esparganosis**, se desarrolla en una úlcera o en el ojo del humano por la transferencia directa de los esparganos motiles (plerocercoides) del género *Spirometra* y cestodos interrelacionados. La ruta normal de estos cestodos (vinculados con la solitaria de los pescados de consumo humano pero distinta de ella, el *Diphyllobothrium latum*) va del copépodo a la rana, a la serpiente de agua o a un roedor y a un gato u otro carnívoro. Sin embargo, cuando se emplea carne infectada de rana o de serpiente de agua como cataplasma sobre una herida o un ojo lesionado, el cestodo larvario es atraído por la temperatura más alta y se aloja en el tejido abierto. No se presenta otro desarrollo y resulta en la inflamación y la infección secundarias. El tratamiento es tópico o quirúrgico. También se ha informado la infección de la piel del humano por beber agua que contenga copépodos infectados con larvas procerocoides.

La enfermedad causada por cestodos consiste principalmente en un malestar abdominal vago y en la pérdida del apetito que conduce a pérdida de peso. Sin embargo, el *D. latum* tiene una capacidad inusitada para absorber vitamina B₁₂ y en algunos grupos —especialmente finlandeses— se produce insuficiencia de dicha vitamina que raras veces causa diferentes grados de anemia perniciosas.

El tratamiento de la infección con cestodos adultos, igual que con los trematodos, se ha simplificado y mejorado mucho con el desarrollo del fármaco praziquantel (Biltricide®). No obstante, las tabletas masticables del fármaco niclosamida (Niclocide®) son igualmente eficaces y es el de elección para algunos médicos.

En el cuadro 46-4 se presenta un resumen de la información básica acerca de los helmintos parásitos de humanos.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

- Un paciente varón, robusto de 18 años de edad padece dolor abdominal, distensión abdominal, heces sueltas frecuentes y falta de energía. Regresó hace un mes de una expedición de tres semanas al campamento base del Monte Everest en Nepal. El viaje sólo consistió en escalas elevaciones altas, ya que llegaban y salían por aire del punto de partida a 3 000 m. Con las preguntas epidemiológicas ahora se debe determinar (elijá la opción más importante):
 - Exposición a radiación ultravioleta de alto nivel
 - La fuente y purificación de agua
 - El uso de repelentes contra insectos mientras se ascendía
 - La presencia de animales domésticos en el camino
 - El grado de contacto con los pobladores en el camino
- El desarrollo diagnóstico para el paciente de la pregunta 1 debe incluir (elijá la opción más apropiada):
 - Examen bacteriológico de sangre y orina
 - Serie de frotis fecales para examen de huevos y parásitos
 - ELISA o pruebas serológicas de hemaglutinación para paludismo
 - Prueba microfilarial de trozo de piel
 - Prueba del cordón para estronigoides
- El parásito con más probabilidades de ser el causante de la enfermedad del paciente de la pregunta 1 es:
 - Entamoeba hartmanni*
 - Entamoeba dispar*
 - Trichomonas vaginalis*

- Naegleria gruberi*
- Giardia lamblia*
- Chilomastix mesnili*
- Balantidium coli*
- Dientamoeba fragilis*

- Una mujer sexualmente activa de 24 años de edad acude al médico por prurito vaginal y flujo purulento maloliente. Para comprobar el diagnóstico tentativo de tricomoniasis, es necesario incluir:

- Una prueba sérológica específica
- Frotis fecal para huevos y parásitos
- Exudado vaginal
- Prueba ELISA de suero
- Prueba de pH de la muestra de sangre
- Cultivo de heces

- Se tiene un paciente que es voluntario de los Cuerpos de Paz que acaba de regresar de un periodo de dos años trabajando en una zona de guerra en el sur de Sudan en África Central. El paciente presenta un marcado aumento esplénico, hipergammaglobulinemia inespecífica y una prueba cutánea de leishmania negativa. Su nivel de energía y apetito son normales. Sin embargo, hay febrícula dos veces al día y un oscurecimiento de su piel en las sienes. El diagnóstico tentativo es:

- Paludismo
- Leishmaniasis cutánea
- Leishmaniasis visceral
- Tripanosomiasis
- Filariasis
- Amibiasis
- Balantidiasis

- A un paciente que vuelve de un viaje por India y el sudeste de Asia se le diagnosticó amibiasis intestinal, que se trató de manera exitosa con yodoquinol. Un mes después el paciente regresa con un padecimiento con las siguientes condiciones, una de las cuales tiene más probabilidades de ser resultado de una amibiasis sistémica (aun cuando al parecer la infección intestinal esté curada):

- Fiebre periódica alta
- Orina sanguinolenta
- Respiración superficial que causa dolor
- Lesión cutánea purulenta
- Bazo distendido doloroso
- Hígado hipersensible con aumento de tamaño
- Anemia grave

- La enfermedad de Chagas es temida en particular en Latinoamérica debido al riesgo que representa para el corazón y el sistema nervioso parasimpático y a la falta de un fármaco eficaz para las etapas sintomáticas posteriores. Un paciente planea residir en un pueblo de Venezuela durante 1 a 2 años. Una de las siguientes sugerencias sería de mucha utilidad para evitar que el sujeto tenga enfermedad de Chagas:

- Hervir o tratar el agua potable
- Dormir bajo una red para mosquitos
- No permitir que en la casa haya animales de compañía
- Nunca caminar descalzo en el pueblo
- No comer lechugas u otra verdura cruda o fruta sin pelar
- Nunca tener relaciones sexuales sin protección
- Evitar salir de noche

- Una mujer de 38 años de edad aparentemente agotada pero alerta llega a pedir consulta después de haber pasado seis meses como maestra en una escuela rural de Tailandia. Sus principales molestias son cefaleas frecuentes, náuseas y vómitos ocasionales y fiebre

- periódica. Se sospecha de paludismo y, de hecho, se encuentran parásitos de eritrocitos en un frotis delgado de sangre de punción digital. Para descartar la peligrosa forma *falciparum* del paludismo, una de las siguientes opciones se ajustaría a un diagnóstico de paludismo por *Plasmodium falciparum* con base en el examen microscópico del frotis de sangre:
- Numerosos parásitos grandes de forma ovoide en algunos de los eritrocitos
 - Eritrocitos ensanchados, un poco deformados, infectados con parásitos
 - Parásitos segmentadores (esquizontes) en los eritrocitos con progenie de 8 a 12
 - Parásitos segmentadores en eritrocitos con progenie de 16 a 24
 - Sólo numerosas formas anilladas pequeñas encontradas en el frotis
 - Presencia de gametocitos redondos
 - Todas las etapas del desarrollo encontradas en el frotis
 - Numerosos trofozoitos con forma de banda en los eritrocitos infectados con parásitos
- Una vez determinado un diagnóstico de paludismo por *Plasmodium falciparum* para la paciente de la pregunta 8, se debe sugerir un régimen de tratamiento de (elijá uno):
 - Quinidina intravenosa
 - Cloroquina oral
 - Cloroquina intravenosa
 - Proguanil oral
 - Proguanil oral más atavacuona
 - Primaquina oral
 - Dado el diagnóstico de paludismo por *P. falciparum*, es necesario indicar a la paciente de la pregunta 8 que (elijá una respuesta):
 - Hay pocas probabilidades de recaída en 1 a 3 años
 - Hay una alta probabilidad de que, debido a la resistencia, serán necesarios más tratamientos
 - Volver al trópico sería peligroso porque se podría haber desarrollado hipersensibilidad al parásito
 - La paciente debe evitar las picaduras de mosquitos en este país, ya que podrían inducir una recaída de paludismo
 - Un tratamiento con primaquina para eliminar del hígado a los hipozoitos evitaría la recidiva de paludismo *falciparum*
 - La gravedad de la infección por *Plasmodium falciparum* comparada con las otras tres formas de paludismo se debe a una de las siguientes afirmaciones:
 - La destrucción de los leucocitos compromete la reacción inmune contra el paludismo
 - Las células madre de la médula son destruidas en gran parte
 - El daño extenso al hígado se presenta durante la fase preeritrocítica del ciclo de parásito
 - Los parásitos de la corriente sanguínea reinvasan el hígado e inducen un estado mórbido más grave
 - Los eritrocitos infectados y deformados se adhieren al revestimiento interior de los vasos sanguíneos y bloquean el flujo de sangre a través de estos vasos
 - Se tiene un paciente de nueve años de edad con problemas para leer y cefaleas. También se considera la posibilidad de una anomalía del desarrollo. Entre los distintos procedimientos enumerados a continuación se debe poner atención especial a uno:
 - Examen del ojo para detectar cisticercosis
 - Un examen inmunológico completo para detectar posibles alergias alimentarias
 - Revisión de la historia familiar para predisposición genética a la supuesta enfermedad
 - Prueba serológica para anticuerpos de parásitos protozoarios
 - Prueba fecal de parásitos y huevos para oocistos de toxoplasma
 - Un brote de problemas intestinales leves, insomnio, comezón y ansiedad surgió entre los niños de preescolar de un hogar particular. Se pide a un médico que sugiera posibles causas parasitarias. El único candidato con más probabilidades entre los parásitos siguientes es:
 - Trichomonas vaginalis*
 - Enterobius vermicularis*
 - Ascaris lumbricoides*
 - Necator americanus*
 - Plasmodium vivax*
 - Taenia saginata*
 - Entamoeba histolytica*
 - La ascariasis afecta a cientos de millones de personas en áreas rurales del mundo. Sin embargo, es poco común en áreas urbanas con sistemas de drenaje en funcionamiento. Uno de los siguientes contribuye en gran medida a esta situación factores:
 - La contaminación larvaria del suelo expone a las poblaciones rurales a un nivel de infección mayor
 - El agua potable contaminada es el principal modo de infección rural
 - Los huevos, aunque abundantes, no son infecciosos durante varios meses después de ser depositados
 - La contaminación fecal de la ropa de cama y sábanas es una fuente de infección importante
 - Los animales domésticos son una importante fuente de infección
 - La dieta inadecuada es una razón principal para la abundancia de parásitos en el medio rural
 - Se tiene a una paciente de 35 años de edad que vive en Alabama y está visitando a sus parientes de San Francisco. Al parecer está confundida, con dificultad para caminar y tiene un edema periorbital perceptible. Sus malestares son diarrea, dolor gástrico superior con cólicos, dolores agudos en brazos y piernas y diaforesis nocturnas con fiebre. Asimismo, se observan hemorragias en astilla. Al cuestionar a la paciente se sabe que dos semanas antes hubo una fiesta familiar al aire libre. Para comprobar el diagnóstico inicial se emprende de inmediato una de las siguientes acciones:
 - Examen serodiagnóstico en busca de anticuerpos IgM para toxoplasma
 - Preguntar al paciente acerca de los alimentos de la comida al aire libre que ingirieron la paciente y otros miembros de la familia
 - Buscar evidencia de la enfermedad entre otros vecinos
 - Solicitar exámenes de frotis fecal para huevos y parásitos
 - Pedir información acerca de si la paciente (y otras personas) caminó descalza en la fiesta
 - Preguntar a la paciente si ella u otros presentes estuvieron nadando durante la fiesta
 - Un médico trabaja en una clínica rural de Kenya y una mamá lleva a su niña de tres años de edad. La apariencia de la niña es de emaciación y tiene una concentración de hemoglobina de 5 g/dL. Sus pies y rodillas tienen hinchazón y hay un exantema extenso en sus pies, tobillos y rodillas. El tiempo es insuficiente para hacer más observaciones y se carece de laboratorio. La causa directa más probable de la condición de la niña es

- A. Esquistosomiasis
 B. Dermatitis cercarial
 C. Ascariasis
 D. Uncinariasis
 E. Tricuriasis
 F. Paludismo
 G. Amibiasis
17. Las microfilarias, forma prelarvaria embrionaria en la sangre o linfa humana, son las causantes de la etapa infecciosa del huésped insecto. Sólo la larva que se desarrolla en el insecto causa filariasis en los humanos. Los gusanos adultos causan en todas las especies excepto una los efectos patológicos de las filarias en los humanos, y en ese caso las microfilarias causan el daño principal. Esa especie es:
 A. *Brugia malayi*
 B. *Mansonella ozzardi*
 C. *Dracunculus medinensis*
 D. *Wuchereria bancrofti*
- E. *Onchocerca volvulus*
 F. *Loa loa*
18. Se tiene la noticia de que un pueblo de la tierras altas de Papúa, en Nueva Guinea, en el que se come carne de cerdo hay un brote de convulsiones epileptiformes. Se envía a una persona a investigar. Una de las primeras cosas que hay que estudiar es:
 A. El nivel de *Balantidium coli* en la población de cerdos del pueblo
 B. La práctica de consumir sesos humanos crudos de miembros de la familia recién muertos (la ceremonia antigua del canibalismo ritual)
 C. La presencia de *Trypanosoma brucei gambiense* en los pobladores
 D. La presencia de huevos de tenia en el agua potable
 E. La presencia de *Taenia solium* adulta en los cerdos

Respuestas: 1 = B; 2 = B; 3 = E; 4 = C; 5 = C; 6 = F; 7 = B; 8 = E; 9 = E; 10 = A; 11 = E; 12 = D; 13 = B; 14 = C; 15 = B; 16 = D; 17 = E; 18 = D

REFERENCIAS

- Bruckner DA: Amebiasis. Clin Microbiol Rev 1992;5:356.
 Clark DP, Sears CL: The pathogenesis of cryptosporidiosis. Parasitol Today 1996;12:221.
 Cook GC, Zumb A (editors): *Manson's Tropical Diseases*, 21^a ed. Saunders, 2003.
 Drugs for parasitic infections. Med Lett Drugs Ther March 2000 (Subsequent issues online).
 Garcia LS, Bruckner DA: *Diagnostic Medical Parasitology*, 3rd ed. American Society for Microbiology, 1997.
 Gilles HM: *Management of Severe and Complicated Malaria. A Practical Handbook*. WHO, 1991.
 Goldsmith RS: Infectious diseases: Protozoal and helminthic. In: *Current Medical Diagnosis & Treatment 2004*. Tierney LM Jr, McPhee SJ, Papadakis MA (editors). McGraw-Hill, 2004.
 Goldsmith RS, Heyneman D (editors): *Tropical medicine and Parasitology*. Appleton & Lange, 1989.
 Guerrant RL, Walker DH, Weller PF (editors): *Essential of Tropical Infectious Diseases*. Churchill Livingstone, 2001.
 Katzung BG (editors): *Basic & Clinical Pharmacology*, 9th ed. McGraw-Hill, 2004.
 MacLeod CL (editor): *Parasitic Infections in Pregnancy and the Newborn*. Oxford Univ Press, 1988.
 McKerrrow J, Parslow TG: Parasitic diseases. In: *Medical Immunology*, 10th ed. Parslow TG et al. (editors). McGraw-Hill, 2001.
 Ortega YR et al.: *Cyclospora* species: A new protozoan pathogen of humans. N Engl J Med 1993;328:1308.
 Peters W: *A Colour Atlas of Arthropods in Clinical Medicine*. Wolfe, 1992.
 Peters W, Pasvol G: *Tropical Medicine & Parasitology*, 5th ed. Mosby 2002.
 Price DL: *Procedure Manual for the Diagnosis of Intestinal Parasites*. CRC Press, 1994.
 Strickland GT: *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*. Saunders, 2000.
 Tanowitz HB et al.: Chagas' disease. Clin Microbiol Rev 1992;5:400.
 Voller A: Immunoassays for tropical parasitic infections. Trans R Soc Trop Med Hyg 1993;87:497.
 Wilson ME: *A World Guide to Infections, Diseases, Distribution, Diagnosis*. Oxford Univ Press, 1991.
 Wilson WR, Sande MA (editors): *Current Diagnosis & Treatment in Infectious Diseases*. McGraw-Hill, 2001.
 World Health Organization: *Malaria Diagnosis. New Perspectives*. WHO, 2000.
 World Health Organization: *WHO Expert Committee on Malaria, 20th Report*. WHO Tech Report Series 892. WHO, 2000.

SECCIÓN VII

**Microbiología médica
para diagnóstico y
correlación clínica**

Principios del diagnóstico microbiológico en medicina

El diagnóstico microbiológico en medicina se relaciona con el de las causas de infección. Los procedimientos de laboratorio empleados en el diagnóstico de enfermedades infecciosas en humanos incluyen lo siguiente:

- 1) Identificación morfológica del agente infeccioso en tinciones de las muestras o en cortes de tejido (microscopio de luz y electrónico).
- 2) Aislamiento e identificación en cultivo del agente infeccioso.
- 3) Detección de antígeno del agente mediante análisis inmunológico (aglutinación en látex, EIA, etc.) o por tinciones con anticuerpos con fluoresceína marcada (o marcados con peroxidasa).
- 4) Hibridación DNA-DNA o DNA-RNA para detectar genes específicos de patógenos en muestras recolectadas del paciente.
- 5) Demostración significativa de anticuerpos o de respuesta inmunitaria mediada por células a un agente infeccioso.

En el campo de las enfermedades infecciosas, los resultados de las pruebas de laboratorio dependen principalmente de la calidad de la muestra, el momento y el cuidado con que se recolectaron, así como la eficiencia técnica y experiencia del personal del laboratorio. Aunque los médicos deben ser competentes para realizar algunas pruebas microbiológicas simples decisivas (efectuar y teñir un frotis, examinarlo en el microscopio y sembrar en una placa de cultivo), los detalles técnicos de la mayor parte de los procedimientos implicados, por lo general, se dejan en manos del bacteriólogo o el virólogo y el personal técnico. Los médicos que tratan procesos infecciosos deben saber cuándo y cómo tomar muestras, qué exámenes de laboratorio se requieren y cómo interpretar los resultados.

En este capítulo se estudia el diagnóstico microbiológico de enfermedades bacterianas, micóticas, por clamidia y virales. El diagnóstico de enfermedades parasitarias se estudia en el capítulo 46.

COMUNICACIÓN ENTRE EL MÉDICO Y EL LABORATORIO

El diagnóstico microbiológico incluye caracterización de miles de agentes que causan o se vinculan con enfermedades infecciosas. Las técnicas empleadas para caracterizar agentes infecciosos varían mucho según el síndrome clínico y el tipo de agente causal considerado, ya sea virus, bacteria, hongo u otro parásito. Puesto que no existe una prueba simple que permita el aislamiento y la caracterización de todos los posibles patógenos, la información clínica es mucho más importante para el diagnóstico microbiológico que para la química clínica o la hematología. Los médicos deben establecer el diagnóstico tentativo en lugar de esperar los resultados de laboratorio. Cuando se solicitan pruebas de laboratorio, el médico debe informar al personal dicho diagnóstico tentativo (tipo de infección o agente infeccioso que se sospecha). El etiquetado apropiado de las muestras incluye datos clínicos y datos de identificación del paciente, así como nombre, dirección y número telefónico del médico.

Muchos microorganismos patógenos crecen con lentitud y pueden transcurrir días o incluso semanas antes de que puedan aislarse o identificarse. El tratamiento no puede aplazarse hasta que concluya este proceso. Después de obtener las muestras apropiadas e informar al laboratorio del diagnóstico clínico presuntivo, el médico debe iniciar el tratamiento con fármacos dirigidos a combatir el microorganismo que se sospecha causa la enfermedad del paciente. Conforme el personal de laboratorio empieza a obtener resultados, informará al médico, quien puede entonces revalorar el diagnóstico y la evolución clínica del paciente y tal vez modificar el plan terapéutico. Esta "retroalimentación" de información por parte del laboratorio consiste en comunicaciones preliminares de los resultados obtenidos en los pasos individuales para el aislamiento e identificación del agente causal.

DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES BACTERIANAS Y MICÓTICAS

Muestras

Por lo general, el examen de laboratorio incluye estudio microscópico de materiales frescos teñidos y no teñidos y preparación de cultivos con las condiciones adecuadas para el crecimiento de una extensa variedad de microorganismos, incluso el tipo de microorganismo con mayor probabilidad de ser la causa con base en la evidencia clínica. Si se aísla un microorganismo, se puede intentar entonces la identificación completa. Los microorganismos aislados se pueden probar respecto de la susceptibilidad a los antimicrobianos. Cuando se aíslan patógenos con importancia clínica antes del tratamiento, puede ser apropiado efectuar exámenes de laboratorio para vigilancia durante y después del tratamiento.

Una muestra recolectada de manera apropiada es el paso más importante en el diagnóstico de una infección, puesto que los resultados de las pruebas diagnósticas para identificar enfermedades infecciosas dependen de la selección, el momento y el método de recolección de las muestras. Las bacterias y los hongos crecen y mueren, son susceptibles a muchas sustancias químicas, y se pueden encontrar en diferentes sitios anatómicos así como en diversos líquidos y tejidos del cuerpo durante el curso de las enfermedades infecciosas. Puesto que el aislamiento de un agente infeccioso es tan importante para formular el diagnóstico, la muestra se debe coleccionar del sitio donde exista la mayor probabilidad de encontrar este agente en una etapa particular de la enfermedad y se debe manejar de tal manera que se favorezca la supervivencia y el crecimiento de dicho agente. Para el manejo óptimo de cada tipo de muestra se proporciona información en los siguientes párrafos y en la sección acerca de diagnóstico por sitio anatómico, más adelante.

La recuperación de bacterias y hongos es más significativa si el agente se aísla de un sitio normalmente desprovisto de microorganismos (un área por lo regular estéril). Cualquier tipo de microorganismo cultivado de sangre, líquido cefalorraquídeo, líquido articular o de la cavidad pleural es un dato diagnóstico importante. Por el contrario, muchas partes del cuerpo poseen una flora microbiana normal (capítulo 11) que puede alterarse por influencias endógenas o exógenas. La recuperación de patógenos potenciales de los aparatos respiratorio, gastrointestinal o genitourinario; de heridas; o de piel, debe considerarse en el contexto de la flora normal de cada sitio particular. Los datos microbiológicos se deben correlacionar con la información clínica para llegar a una interpretación significativa de los resultados.

Para todas las muestras se aplican algunas reglas generales:

- 1) La cantidad de material debe ser adecuada.
- 2) La muestra debe ser representativa del proceso infeccioso (p. ej., esputo, no saliva; pus de la lesión subya-

cente, no de su trayecto fistuloso; una muestra de lo profundo de la herida, no de su superficie).

- 3) Se debe evitar la contaminación de la muestra utilizando sólo equipo estéril y precauciones asepticas.
- 4) La muestra se debe enviar al laboratorio y examinarse pronto. Los medios especiales para transporte pueden ser útiles.
- 5) Se debe asegurar que las muestras significativas para el diagnóstico de infecciones bacterianas y micóticas se obtengan antes de administrar antimicrobianos; de lo contrario, éstos a veces tienen que interrumpirse y se debe repetir la toma de muestras varios días después.

El tipo de muestra que se examina está determinado por el cuadro clínico presente. Si los síntomas o signos indican afección de algún órgano, se deben obtener muestras de esa fuente. En ausencia de síntomas o signos de localización se toman primero muestras repetidas de sangre para cultivo, y las de otros sitios se consideran después en secuencia, según la probabilidad de afección de un órgano determinado en un paciente dado y de la facilidad para obtener las muestras.

Microscopía y tinción

El examen microscópico de las muestras teñidas o no teñidas es un método relativamente simple y poco costoso, pero mucho menos sensible que el cultivo para detección de bacterias en número pequeño. Una muestra debe contener al menos 10^5 microorganismos/mL antes de tener probabilidad de observar los microorganismos en un frotis. El medio líquido que contiene 10^5 microorganismos/mL no presenta turbidez a simple vista. Las muestras que contienen 10^2 a 10^3 microorganismos/mL producen crecimiento sobre medios sólidos, y aquellas que contienen 10 o menos bacterias/mL pueden producir crecimiento en medio líquido.

La tinción de Gram es el procedimiento simple más útil en el diagnóstico microbiológico. La mayor parte de las muestras sometidas a examen cuando se sospecha infección bacteriana deben ser extendidas en frotis sobre laminillas de vidrio, teñidas con Gram y examinadas en el microscopio. Los materiales y los métodos para la tinción de Gram se describen en el cuadro 47-1. En el examen microscópico, la reacción de Gram (púrpura-azul indica microorganismos grampositivos; rojo, gramnegativos) y la morfología (forma: cocos, bacilos, fusiformes u otros; véase capítulo 2) deben observarse en las bacterias. El aspecto de las bacterias en frotis teñidos con Gram no permite identificar la especie. El informe de cocos grampositivos en cadenas sugieren, pero no establecen de manera definitiva, que se trata de especies de estreptococos; cocos grampositivos en racimo sugieren especies de estafilococos. Los bacilos gramnegativos pueden ser grandes, pequeños o incluso cocobacilares. Algunas bacterias grampositivas no viables pueden teñirse negativamente con el Gram. Por lo general, la morfología de las bacterias se define al utilizar microorganismos crecidos sobre agar. Sin embargo, las bacterias en los líquidos o tejidos corporales pueden presentar una morfología muy variable.

Tinción

1) Fijación

2) Coloración

3) Lavado

4) Contraste

5) Lavado

6) Contraste

7) Lavado

8) Contraste

9) Lavado

10) Contraste

11) Fijación

12) Coloración

13) Lavado

14) Contraste

15) Lavado

16) Contraste

17) Lavado

18) Contraste

19) Lavado

20) Contraste

21) Lavado

22) Contraste

23) Lavado

24) Contraste

25) Lavado

26) Contraste

27) Lavado

28) Contraste

29) Lavado

30) Contraste

31) Lavado

32) Contraste

33) Lavado

34) Contraste

35) Lavado

36) Contraste

37) Lavado

38) Contraste

39) Lavado

40) Contraste

41) Lavado

42) Contraste

43) Lavado

44) Contraste

45) Lavado

46) Contraste

47) Lavado

48) Contraste

49) Lavado

50) Contraste

51) Lavado

52) Contraste

53) Lavado

54) Contraste

55) Lavado

56) Contraste

57) Lavado

58) Contraste

59) Lavado

60) Contraste

Cuadro 47-1. Métodos de tinción de Gram y acidorresistentes**Tinción de Gram**

- 1) Fijar el frotis con calor
- 2) Cubrir con cristal violeta
- 3) Lavar con agua. No secar
- 4) Cubrir con yodo de Gram
- 5) Lavar con agua. No secar
- 6) Decolorar durante 10 a 30 seg con agitación suave en acetona (30 mL) y alcohol (70 mL)
- 7) Lavar con agua. No secar
- 8) Cubrir durante 10 a 30 seg con safranina (solución al 2.5% en alcohol 95%)
- 9) Lavar con agua y dejar secar

Tinción acidorresistente de Ziehl-Neelsen

- 1) Fijar el frotis con calor
- 2) Cubrir con carbolfucsina, calentar hasta la emisión de vapores durante 5 min sobre flama directa (o durante 20 min sobre baño María)
- 3) Lavar con agua
- 4) Decolorar en alcohol-ácido hasta que permanezca sólo un color rosa débil
- 5) Lavar con agua
- 6) Contrateñir durante 10 a 30 seg con azul de metileno de Löffler
- 7) Lavar con agua y dejar secar

Tinción para acidorresistentes con carbolfucsina de Kinyoun

- 1) Fórmula: 4 g de fucsina básica, 8 g de fenol, 20 mL de alcohol al 95%, 100 mL de agua destilada
- 2) Teñir durante 3 min el frotis fijado (el calor no es necesario) y continuar igual que con la tinción de Ziehl-Neelsen

Las muestras remitidas para examen en busca de micobacterias deben teñirse con colorantes para microorganismos acidorresistentes, mediante colorante de Ziehl-Neelsen o colorante de Kinyoun (cuadro 47-1). Una tinción fluorescente alterna para micobacterias (el colorante auramina-rodamina) es más sensible que otras tinciones para microorganismos acidorresistentes, pero requiere microscopio de fluorescencia, y si los resultados son positivos confirmar la morfología con una tinción acidorresistente (capítulo 24).

La tinción con anticuerpos inmunofluorescentes (IF) es útil para identificar muchos microorganismos. Estos procedimientos son más específicos que otras técnicas de tinción, pero también más difíciles de ejecutar. Los anticuerpos marcados con fluoresceína de uso común se elaboran a partir de antiseros producidos al inyectar animales con microorganismos totales o mezclas complejas de antígenos. Los anticuerpos policlonales resultantes pueden reaccionar con múltiples antígenos del microorganismo inyectado y también pueden presentar reacción cruzada con antígenos de otros microorganismos o tal vez con células humanas en la muestra. El control de calidad es importante para reducir al mínimo la tinción de IF inespecífica. El uso de anticuerpos monoclonales puede ahorrar el problema de la tinción inespecífica. La tinción IF es más útil para

confirmar la presencia de microorganismos específicos como *Bordetella pertussis* o *Legionella pneumophila* en colonias aisladas sobre el medio de cultivo. El uso de la tinción IF directamente sobre las muestras de pacientes es más difícil y menos específica.

Los colorantes como el calcofluor blanco, la metenamina argéntica y, en ocasiones, el ácido peryódico de Schiff (PAS) y otros se emplean para tejidos y otras muestras en las cuales se encuentran hongos u otros parásitos. Estas tinciones no son específicas para microorganismos determinados, pero pueden definir la estructura de modo que se puedan entonces utilizar criterios morfológicos para la identificación. El calcofluor blanco se une a la celulosa y la quitina en las paredes de las células de los hongos y presenta fluorescencia bajo la luz ultravioleta de longitud de onda larga. Puede mostrar la morfología diagnóstica de las especies (p. ej., esferulas con las endosporas en la infección por *Coccidioides immitis*). Los quistes del *Pneumocystis jirovecii* se identifican morfológicamente en muestras teñidas con plata. El PAS se utiliza para teñir cortes de tejidos cuando se sospecha infección por hongos. Después del aislamiento primario de los hongos, colorantes como el azul algodón lactofenol pueden emplearse para distinguir el crecimiento del hongo e identificar los microorganismos por su morfología.

Las muestras que deben examinarse para hongos se pueden observar sin teñir después de un tratamiento con solución de hidróxido de potasio al 10%, que rompe el tejido que rodea al micelio de los hongos para permitir mejor visualización de las formas hifales. El microscopio de contraste de fases a veces es útil en muestras no teñidas. La microscopía en campo oscuro se emplea para detectar el *Treponema pallidum* en el material procedente de las lesiones sifilíticas primarias o secundarias.

Sistemas de cultivo

Para el diagnóstico bacteriológico es necesario usar varios tipos de medios para el cultivo sistemático, en particular cuando los posibles microorganismos incluyen aerobios, anaerobios facultativos y bacterias anaerobias obligadas. Las muestras y el medio de cultivo empleados para diagnosticar las infecciones bacterianas más comunes se presentan en el cuadro 47-2. El medio estándar para las muestras es el agar sangre, comúnmente elaborado con sangre de borrego al 5%. La mayor parte de los microorganismos aerobios y anaerobios facultativos crecen sobre agar sangre. El agar chocolate, un medio que contiene sangre calentada con o sin complementos, es un segundo medio necesario: algunos microorganismos que no crecen sobre agar sangre, incluso la *Neisseria* y el *Haemophilus* patógenos, crecen sobre agar chocolate. Un medio selectivo para bacilos entéricos gramnegativos (agar de MacConkey o agar azul de metileno-eosina [EMB]) es un tercer tipo de medio utilizado de manera sistemática. Las muestras que deben cultivarse en busca de anaerobios obligados deben sembrarse sobre placas al menos en dos tipos adicionales de medios, los cuales incluyen un agar muy complementado, como el agar brucella con hemina y vitamina K, y un medio selectivo que contenga sustancias inhibitorias del crecimiento de bacilos entéricos gramnegativos y de anaerobios facultativos o cocos anaerobios grampositivos.

Cuadro 47-2. Infecciones bacterianas comunes localizadas: agentes, muestra y pruebas diagnósticas

Enfermedad	Muestra	Agentes causales frecuentes	Datos microscópicos frecuentes	Medio de cultivo	Comentarios
Celulitis cutánea	Raspado con hisopo	Estreptococo β hemolítico del grupo A, <i>Staphylococcus aureus</i>	En ocasiones cocos grampositivos	Agar sangre	El material aspirado del borde activo de la infección puede mostrar el microorganismo
Impétigo	Raspado con hisopo	Igual que para celulitis; pocas veces <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Igual que para celulitis y faringitis		
Úlceras de la piel	Raspado con hisopo	Flora mixta	Flora mixta	Sangre, agar MacConkey o EMB; medio anaeróbico	Las úlceras cutáneas por debajo de la cintura con frecuencia contienen aerobios y anaerobios igual que la flora gastrointestinal
Meningitis	LCR	<i>Neisseria meningitidis</i>	Diplococos intracelulares gramnegativos	Agar chocolate ¹ y agar sangre para cultivo del LCR	La aglutinación en látex (detección de antígenos bacterianos) es una prueba poco eficaz para diagnosticar la causa de la meningitis
		<i>Haemophilus influenzae</i>	Cocobacilos pequeños gramnegativos	Agar chocolate ¹	La aglutinación en látex (detección de antígenos bacterianos) es una prueba poco eficaz para diagnosticar la causa de la meningitis
		<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Cocos grampositivos en pares	Agar sangre	La aglutinación en látex (detección de antígenos bacterianos) es una prueba poco eficaz para diagnosticar la causa de la meningitis
		Estreptococos del grupo B	Cocos grampositivos en pares y cadenas	Agar sangre	La aglutinación en látex (detección de antígenos bacterianos) es una prueba poco eficaz para diagnosticar la causa de la meningitis
		<i>Escherichia coli</i> y otras enterobacterias	Bacilos gramnegativos	Agar sangre	Principalmente en recién nacidos; no se requiere medio selectivo para el cultivo del LCR
		<i>Listeria monocytogenes</i>	Bacilos grampositivos	Agar sangre	β Hemolítico
Absceso cerebral	Pus	Infección mixta; bacilos y cocos anaerobios grampositivos y gramnegativos, cocos aerobios grampositivos	Cocos grampositivos o flora mixta	Agar sangre, agar chocolate, ¹ medio anaerobio	La muestra debe obtenerse quirúrgicamente y transportarse bajo estrictas condiciones anaeróbicas
Absceso peribucal	Pus	Flora mixta de la boca y la faringe	Flora mixta	Agar sangre, agar chocolate, agar MacConkey o EMB; medio anaerobio	Por lo general, infección bacteriana mixta; algunas veces actinomicosis
Faringitis	Raspado con hisopo	Estreptococos del grupo A	No se recomienda	Agar sangre o medio selectivo	β Hemolítico
		<i>C. diphtheriae</i>	No se recomienda	Medio de Löffler o de Pai, a continuación cisteínelúrito o medio de Tinsdale	Bacilos granulares en patrones de "caracteres chinos" en los frotis del cultivo. Se requiere prueba de toxodato

Cuadro 47-2. Infecciones bacterianas comunes localizadas: agentes, muestra y pruebas diagnósticas (continúa)

Enfermedad	Muestra	Agentes causales frecuentes	Datos microscópicos frecuentes	Medio de cultivo	Comentarios
Tos ferina (<i>pertussis</i>)	Raspado con hisopo	<i>Bordetella pertussis</i>	No se recomienda	Agar de Regan-Lowe	La prueba del anticuerpo fluorescente identifica los microorganismos del cultivo y en ocasiones en los frotis directos, la PCR es más sensible que el cultivo
Epiglotitis	Raspado con hisopo	<i>H. influenzae</i>	Por lo general no es útil	Agar chocolate ¹ (también se usa agar sangre)	El <i>H. influenzae</i> es parte de la flora normal en la nasofaringe
Neumonía	Esputo	<i>S. pneumoniae</i>	Muchos PMN, cocos grampositivos en pares o cadenas. Hinchazón de la cápsula con omnisuero	Agar sangre; también agar de MacConkey, EMB y chocolate	El <i>S. pneumoniae</i> es parte de la flora normal de la nasofaringe. Hemocultivo específico (positivo) en 10 a 20%
		<i>S. aureus</i>	Cocos grampositivos en pares, tetradas y racimos	Agar sangre; también agar de MacConkey, EMB y chocolate	Causa poco común de neumonía. Por lo general, hemolítico, coagulasa positiva
		<i>Enterobacteriaceae</i> y otros bacilos gramnegativos	Bacilos gramnegativos	Agar sangre; agar de MacConkey o EMB	Causas poco comunes de neumonía
		Anaerobios mixtos y aerobios	Flora mixta del aparato respiratorio, a veces muchos PMN	Sangre, agar de MacConkey o EMB; medio anaeróbico	Las muestras deben obtenerse por broncoscopia o aspiración transtraqueal; el esputo expectorado no es satisfactorio para anaerobios
Empiema torácico	Pus	Igual que para neumonía o infección por flora mixta	Flora mixta	Sangre, agar de MacConkey o EMB; medio anaeróbico	Por lo general neumonía; flora mixta aeróbica y anaeróbica procedente de la bucofaringe
Absceso hepático	Pus	<i>E. coli</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> , flora aerobia mixta o anaerobia	Bacilos gramnegativos y flora mixta	Sangre, agar de MacConkey o EMB; medio anaeróbico	Comúnmente aerobios entéricos gramnegativos y anaerobios; considerarse infección por <i>Entamoeba histolytica</i>
Colecistitis	Bilis	Aerobios entéricos gramnegativos, también <i>B. fragilis</i>	Bacilos gramnegativos	Sangre, agar de MacConkey o EMB; condiciones anaeróbicas	Por lo general, bacilos gramnegativos del aparato gastrointestinal
Absceso abdominal o perirrectal	Pus	Flora gastrointestinal	Flora mixta	Sangre, agar de MacConkey o EMB; medio anaeróbico	Flora intestinal aeróbica y anaeróbica; con frecuencia crecen más de cinco especies
Fiebre entérica, tifoidea	Sangre, heces, orina	<i>Salmonella typhi</i>	No recomendado	Agar de MacConkey, Hektoen, sulfato de bismuto; otros	Se deben cultivar múltiples muestras, lactosa-negativo. Producción de H ₂ S
Enteritis, enterocolitis, diarrea bacteriana, "gastroenteritis"	Heces	Especies de <i>Salmonella</i> diferentes de la <i>S. typhi</i>	La tinción de Gram o con azul de metileno pueden mostrar PMN	Agar de MacConkey, Hektoen, sulfato de bismuto; otros	Colonias no fermentadoras de lactosa en agar inclinado de TSI ² ; <i>salmonella</i> no tífica produce ácido y gas en el fondo, parte inclinada alcalina, y H ₂ S

Cuadro 47-2. Infecciones bacterianas comunes localizadas: agentes, muestra y pruebas diagnósticas (continúa)

Enfermedad	Muestra	Agentes causales frecuentes	Datos microscópicos frecuentes	Medio de cultivo	Comentarios
Enteritis, enterocolitis, diarrea bacteriana, "gas-troenteritis" (continuación)	Heces	Especies de <i>Shigella</i>	La tinción de Gram o con azul de metileno pueden mostrar PMN	Agar de MacConkey, Hektoen, sulfato de bismuto; otros	Colonias no fermentadoras de lactosa en agar inclinado TSI ¹ la shigela produce ambiente alcalino en parte inclinada, fondo ácido sin gas
		<i>Campylobacter jejuni</i>	Bacilos gramnegativos "en forma de ala de gaviota" y con frecuencia PMN	Medio especial campy BAP o similar	Incubar a 42 °C; colonias oxidasas-positivas; los frotis muestran bacilos en "forma de ala de gaviota"
		<i>Vibrio cholerae</i>	No recomendado	Agar fosfato citrato sales biliares (TCBS) sacarosa; otros. Peptonataurocolato en caldo para enriquecimiento	Colonias amarillas en TCBS. <i>V. cholerae</i> es positiva a oxidasas
		Otros vibrios	No recomendado	Igual que para <i>V. cholerae</i>	Diferenciar de <i>V. cholerae</i> mediante cultivo y pruebas bioquímicas
		<i>Yersinia enterocolitica</i>	No recomendado	MacConkey, CIN ²	El enriquecimiento a 4 °C es útil, incubar cultivo a 25 °C
Colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico	Heces	<i>E. coli</i> O157:H7	No recomendado	Medio sorbitol MacConkey	Buscar colonias sorbitol-negativas; tipificar con antisuero para antígeno O157 y antígeno flagelar 7
Infección de las vías urinarias	Orina (limpia recolectada a medio chorro u obtenida por cateterización de la vejiga o aspiración suprapúbica)	<i>E. coli</i> , enterocacterias; otros bacilos gramnegativos	Bacilos gramnegativos observados en frotis teñidos de orina no centrifugada indican más de 10 ⁵ microorganismos/mL	Agar sangre, MacConkey o EMB	Las colonias grises que son β hemolíticas y dan positivo con la prueba de la mancha de indol por lo general son de <i>E. coli</i> ; otros requieren pruebas bioquímicas adicionales
Uretritis/cervicitis	Raspado con hisopo	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Diplococos gramnegativos dentro o sobre PMN. Específico para secreción uretral en varones; menos confiable en mujeres	Medio selectivo modificado de Thayer-Martin o similar con antibiótico	El frotis teñido positivo es diagnóstico en varones. En las mujeres es necesario el cultivo. Los gonococos son oxidasas-positivos
		<i>Chlamydia trachomatis</i>	PMN sin diplococos gramnegativos acompañantes	Cultivo en células de McCoy tratadas con cicloheximida	Inclusiones en forma de media luna en las células epiteliales por tinción o inmunofluorescencia. El EIA ³ directo o las pruebas de anticuerpo fluorescente pueden ser útiles; LCR ⁴ o PCR ⁵ son más sensibles
Úlceras genitales	Raspado con hisopo	<i>Haemophilus ducreyi</i> (chancroide)	Flora mixta	Agar chocolate con IsoVitaléX y vancomicina	El diagnóstico diferencial de las úlceras genitales incluye infección por herpes simple
		<i>Treponema pallidum</i> (sífilis)	Examen en campo oscuro o de anticuerpos fluorescentes muestran espiroquetas	Ninguno	

Cuadro 47-2. Infecciones bacterianas comunes localizadas: agentes, muestra y pruebas diagnósticas (continúa)

Enfermedad	Muestra	Agentes causales frecuentes	Datos microscópicos frecuentes	Medio de cultivo	Comentarios
Úlceras genitales (continuación)	Pus aspirado de los ganglios linfáticos supurantes	<i>C. trachomatis</i> (linfogranuloma venéreo)	PMN sin diplococos gramnegativos acompañantes	Cultivo del pus en cultivo de células (como para uretritis)	
Enfermedad pélvica inflamatoria	Frotis del cérvix	<i>N. gonorrhoeae</i>	PMN con diplococos gramnegativos acompañantes; puede haber flora mixta	Medio selectivo modificado de Thayer-Martin o similar con antibiótico	Los microorganismos causantes pueden ser gonococos, anaerobios, otros. Los anaerobios siempre están presentes en el endocervix; por tanto, la muestra endocervical no es adecuada para el cultivo de anaerobios
		<i>C. trachomatis</i>	Véase antes	Cultivo de células (como para uretritis)	
	Material aspirado del fondo de saco o por laparoscopia	<i>N. gonorrhoeae</i>	Diplococos gramnegativos dentro o sobre PMN	Medio modificado de Thayer-Martin	Por lo general, anaerobios mixtos y bacterias aerobias
		<i>C. trachomatis</i>	Véase antes	Cultivo de células (como para uretritis)	
Artritis	Material aspirado de la articulación, sangre	Flora mixta	Flora mixta	Sangre, agar de MacConkey o EMB, medio anaeróbico	
		<i>S. aureus</i>	Diplococos grampositivos en pares, tetradas y racimos	Agar sangre; agar chocolate ¹	Se presenta en niños y adultos; coagulasa-positivo; generalmente β hemolítico
		<i>N. gonorrhoeae</i>	Diplococos gramnegativos dentro o sobre PMN	Medio modificado de Thayer-Martin	Causa más común de artritis séptica en adultos jóvenes
Osteomielitis	Pus o muestra de hueso obtenida por aspiración o cirugía	Otros	La morfología depende de los microorganismos	Agar sangre, agar chocolate; ¹ medio anaerobio	Incluye estreptococos, bacilos gramnegativos y anaerobios
		Múltiple; con frecuencia el <i>S. aureus</i>	La morfología depende de los microorganismos	Agar sangre, agar de MacConkey, EMB; medio anaeróbico	Por lo general microorganismos aerobios; el <i>S. aureus</i> es el más común; bacilos gramnegativos frecuentes; anaerobios menos común

¹Un complemento químico como IsoVitaléX estimula el crecimiento de especies de *Haemophilus* y de *Neisseria*²TSI = agar triple azúcar hierro; CIN = medio Cefalosodina Irgasan Novobiocina³EIA = inmunoanálisis enzimático⁴LCR = reacción en cadena de la ligasa⁵PCR = reacción en cadena de la polimerasa

En el diagnóstico bacteriológico se emplean muchos otros medios especializados; la selección depende del diagnóstico clínico y del microorganismo considerado. El personal de laboratorio selecciona el medio específico con base en la información de la solicitud de cultivo. Por tanto, se utiliza medio de Bordet-Gengou recién preparado o medio que contenga carbón para cultivar *B. pertussis* en el diagnóstico de tos ferina, y se emplean otros medios especiales para el cultivo de *Vibrio cholerae*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria gonorrhoeae*, y especies de *Campylobacter*. Para el cultivo de micobacteria, comúnmente se utilizan medios sólidos o líquidos especializados. Estos pueden contener inhibidores de otras bacterias. Puesto que muchas bacterias crecen lentamente, los cultivos deben incubarse y examinarse con periodicidad durante semanas (véase capítulo 24).

Los caldos de cultivo en medios sumamente enriquecidos son importantes para cultivos de respaldo de tejidos de biopsia y de líquidos corporales como el cefalorraquídeo. Los caldos de cultivo pueden dar resultados positivos cuando no hay crecimiento sobre medios sólidos debido al pequeño número de bacterias presente en el inoculo (véase antes).

Muchas levaduras crecen sobre agar sangre. Las fases micelial y bifásica del hongo crecen mejor sobre medios diseñados específicamente para hongos. El agar de infusión cerebro-corazón, con y sin antibióticos, y el agar inhibitorio de mohos han sustituido con mucho el empleo tradicional de agar dextrosa Sabouraud para el crecimiento de los hongos. En los medios elaborados con plantas y materiales vegetales, hábitat naturales de muchos hongos, también crecen muchos de éstos que causan infecciones.

Cuadro 47-3. Infecciones micóticas comunes: agentes, muestras y pruebas diagnósticas

Muestra		Pruebas serológicas y otras	Comentarios
Micosis invasora (profunda)			
Aspergilosis: <i>Aspergillus fumigatus</i> , otras especies de <i>Aspergillus</i>			
Pulmonar	Secreciones respiratorias	Pruebas de inmunodifusión disponibles; la interpretación de los resultados es objeto de controversia; casi 50% sensible a galactomanano sérico	La serología rara vez es útil
Diseminada	Biopsia, sangre		El <i>Aspergillus</i> es difícil de hacer crecer a partir de la sangre de los pacientes con infección diseminada
Blastomicosis: <i>Blastomyces dermatitidis</i>			
Pulmonar	Secreciones respiratorias	Fijación del complemento (FC)	La prueba de FC por lo general es negativa y por tanto no muy útil. El cultivo es la mejor prueba diagnóstica; la serología rara vez se practica
Úlceras bucales y cutáneas	Biopsia o muestra de raspado con hisopo	FC	
Hueso	Biopsia de hueso	FC	
Coccidioidomicosis: <i>Coccidioides immitis</i>			
Pulmonar	Secreciones respiratorias	FC, inmunodifusión, precipitación, aglutinación en látex, prueba cutánea con coccidioidina o esferulina	<i>C. immitis</i> crece en cultivos normales de agar sangre; el cultivo positivo plantea un serio peligro para los trabajadores del laboratorio. La serología con frecuencia es más útil que el cultivo. Las pruebas cutáneas no alteran los resultados de la serología. El resultado de la prueba cutánea puede tener implicaciones pronósticas
Diseminada	Muestra de biopsia del sitio infectado; por ejemplo, piel, hueso	Igual que arriba, excepto que la prueba cutánea con coccidioidina puede ser negativa	
Histoplasmosis: <i>Histoplasma capsulatum</i>			
Pulmonar	Secreciones respiratorias	FC, inmunodifusión, prueba cutánea, antígeno de histoplasma urinario	La serología es muy útil. La prueba cutánea puede "aumentar" el título de los anticuerpos y no se debe efectuar como prueba diagnóstica
Diseminada	Médula ósea, sangre, biopsia del sitio infectado	Igual que arriba	
Nocardiosis: <i>Nocardia asteroides</i>			
Pulmonar	Secreciones respiratorias	Tinción acidorresistente modificada	Las <i>Nocardia</i> son bacterias que clínicamente se comportan como hongos. Los bacilos filamentosos grampositivos débilmente acidorresistentes y ramificados son <i>Nocardia</i> . Rara vez se emplea serología
Subcutánea	Material aspirado o biopsia del absceso		
Cerebral	Material del absceso cerebral		
Paracoccidioidomicosis (blastomicosis sudamericana): <i>Paracoccidioides brasiliensis</i>			
	Biopsia de la lesión	Inmunodifusión, FC, prueba cutánea (paracoccidioidina)	La prueba de inmunodifusión tiene 95% de sensibilidad y de especificidad; las pruebas de FC y cutánea muestran reacción cruzada con la histoplasmina. La prueba cutánea positiva tiene valor pronóstico
Esporotricosis: <i>Sporothrix schenckii</i>			
Nódulos cutáneos y subcutáneos	Biopsia	Aglutinación	
Diseminada	Biopsia del sitio infectado	Igual que arriba	

Cuadro 47-3. Infecciones micóticas comunes: agentes, muestras y pruebas diagnósticas (continúa)

	Muestra	Pruebas serológicas y otras	Comentarios
Cigomicosis (ficomicosis, mucormicosis): especies de <i>Rhizopus</i> , de <i>Mucor</i> , otros			
Nasal-ocular-cerebral	Tejido nasal-orbital	Ninguna	En los cortes microscópicos se observan hifas no septadas
Pulmonar y diseminada	Secreciones respiratorias, biopsia	Ninguna	
Infecciones por levaduras			
Candidiasis: <i>Candida albicans</i> y levaduras similares ¹			
Mucosa	Secreciones	Montaje en KOH en fresco útil para microscopía en la infección localizada	
Piel	Raspado con hisopo		
Sistémica	Sangre, muestra de biopsia, orina	Inmunodifusión, prueba cutánea	La serología rara vez es útil. La prueba cutánea se emplea para la detección de anergia, no para diagnóstico de la infección
Cryptococosis: <i>Cryptococcus neoformans</i>			
Pulmonar	Secreciones respiratorias	Antígeno cryptocócico raras veces detectado	Anticuerpos al <i>C. neoformans</i> rara vez se encuentran
Meningitis	LCR	Es más útil la aglutinación en látex para el antígeno cryptocócico	Puede ser necesario el examen repetido del LCR para diagnosticar meningitis
Diseminada	Médula ósea, hueso, sangre, otros	Agglutinación en látex para antígeno cryptocócico	
Infecciones cutáneas primarias			
Dermatofitosis: especies de <i>Microsporum</i> , <i>Epidermophyton</i> y de <i>Trichophyton</i>			
	Pelo, piel y uñas de sitios infectados	Ninguno	

¹*C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* y otras especies de *Candida*.

se utiliza para amplificar cantidades extremadamente pequeñas de DNA específico presente en una muestra clínica, haciendo posible su detección. La PCR emplea una DNA polimerasa termoestable para producir una amplificación doble del DNA blanco con cada ciclo de temperatura. El DNA extraído de la muestra clínica, junto con los oligonucleótidos específicos de secuencia, nucleótidos, la DNA polimerasa termoestable y el amortiguador, se calientan a 90 a 95°C para desnaturar (separar) las dos cadenas del DNA blanco. La temperatura de la reacción se disminuye, por lo común a 45 a 60°C dependiendo de los iniciadores, para permitir el templado (cocido) de los iniciadores e integración al DNA blanco. Cada iniciador es extendido por medio de la DNA polimerasa termoestable mediante la adición de nucleótidos complementarios del DNA blanco generando finalmente la amplificación doble. Después se repite el ciclo 30 a 40 veces hasta lograr una amplificación del segmento del DNA blanco de 10^5 a 10^6 veces. El segmento amplificado a menudo puede observarse en un campo de gel electroforético o se puede detectar mediante el análisis *Southern blot* utilizando sondas de DNA marcadas específicas para ese segmento.

La PCR también se puede realizar en objetivos de RNA. Llamándose entonces PCR acoplado a transcriptasa reversa. La enzima transcriptasa reversa se utiliza para transcribir el RNA a DNA complementario y así someterlo a amplificación.

Los ensayos de PCR se encuentran disponibles comercialmente para la identificación de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycobacterium tuberculosis*, citomegalovirus, enterovirus, y muchos más; también se encuentra ya en el mercado un ensayo de este tipo para la detección de carga viral de VIH-1. Existen muchas otras PCR "caseras" que se han desarrollado en laboratorios independientes para diagnosticar infecciones: estos ensayos son las pruebas de elección para diagnosticar muchas infecciones, especialmente cuando las técnicas de cultivo tradicional y detección de antígenos no funcionan de manera óptima. Algunos ejemplos son las pruebas para identificación del virus herpes simple en líquido cefalorraquídeo para diagnosticar encefalitis herpética, y la prueba para diagnosticar infección por *Bordetella pertussis* (tos ferina) en líquido de lavado nasofaríngeo.

Una precaución primordial en los laboratorios que realizan ensayos de PCR consiste en prevenir la contamina-

ción
blan
ción
falso

crip
cia
cant
man
sa H
cont
do p
bora
La R
segu
La ac
ma tr
do ol
caden
blanc
duce
ción
de la
este t

son p
las en

C. S.

La re
ampli
enzim
mostr
cas ca
está d
interv
gonuc
la mu
con el
riorme
las so
tan co
polime
así mo
longit
produc
comer
ca del
detec

D. Té

Estos a
de la m
adhier
ficado
princip
una en
ficas pa
sólida c
sondas
riorme

ción de los reactivos o las muestras que contienen el DNA blanco con el ambiente, lo cual podría dificultar la distinción entre resultados verdaderamente positivos de aquellos falsos positivos como consecuencia de la contaminación.

Los sistemas de **amplificación mediada por transcripción (AMT)** y de **amplificación basada en la secuencia de ácidos nucleicos (ABSAN)** amplifican grandes cantidades de RNA en ensayos isotérmicos que emplean de manera coordinada las enzimas transcriptasa reversa, RNasa H y RNA polimerasa. Un iniciador oligonucleótido que contiene como promotor a la RNA polimerasa es capacitado para fijarse al RNA blanco. La transcriptasa reversa elabora una copia de DNA de cadena única del RNA blanco. La RNasa H destruye el RNA del híbrido RNA-DNA, y un segundo iniciador se templea e integra al segmento de cDNA. La actividad tipo DNA polimerasa dependiente de la enzima transcriptasa reversa replica el DNA a partir del segundo oligonucleótido, produciendo una copia de DNA de doble cadena —dejando intacta a la RNA polimerasa— del RNA blanco original. La RNA polimerasa posteriormente produce muchas copias del RNA de cadena única. La detección de *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* y la cuantificación de la carga viral de VIH-1 son ejemplos de la aplicación de este tipo de ensayos.

Los ensayos de desplazamiento de cadena (EDC) son pruebas de amplificación isotermal donde se emplean las enzimas endonucleasa restrictiva y DNA polimerasa.

C. Sistemas de amplificación de sondas

La reacción en cadena de ligasa (LCR) es un sistema de amplificación diferente de la PCR. La LCR utiliza a las enzimas DNA polimerasa termoestable y DNA ligasa termoestable; también emplea cuatro sondas oligonucleotídicas cada una de 20 a 24 bases. Cada par de oligonucleótidos está diseñado para fijarse al DNA blanco desnaturizado a intervalos de distancia de sólo unas cuantas bases. Los oligonucleótidos se mezclan con el DNA blanco extraído de la muestra y otros reactivos, para después ser calentados con el propósito de desnaturizar el DNA blanco. Posteriormente, la reacción se enfría para permitir la fijación de las sondas oligonucleotídicas al DNA blanco. El espacio tan corto existente entre las dos sondas se llena por la DNA polimerasa y se une mediante la DNA ligasa, generándose así moléculas de DNA de doble cadena de 40 a 50 pb de longitud. El ciclo se repite 30 a 40 veces, hasta finalmente producir un gran número de moléculas DNA. Este sistema comercialmente disponible incluye la detección automática del DNA amplificado. También se puede utilizar para detectar *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*.

D. Técnicas de amplificación de señal

Estos análisis refuerzan señales mediante la amplificación de la marca utilizada (p. ej., fluorocromos, enzimas) que se adhiere al ácido nucleico blanco. El sistema de **DNA ramificado (bDNA)** cuenta con una serie de sondas primarias o principales y una sonda secundaria ramificada marcada con una enzima. Múltiples sondas de oligonucleótidos específicas para el RNA (o DNA) blanco se fijan a una superficie sólida como una cucharilla de microdilución; éstas son las sondas de captura. La muestra preparada se adiciona posteriormente, y las moléculas de RNA se adhieren a las sondas

de captura en la cucharilla de microdilución. Las sondas blanco adicionales se fijan al blanco, mas no a la cucharilla. Las sondas amplificadoras de bDNA marcado con enzima se incorporan después y se adhieren a las sondas blanco; en seguida se adiciona un sustrato quimioluminiscente y la luz emitida se mide para cuantificar la cantidad de RNA blanco presente en la muestra. Ejemplos de la aplicación de este tipo de ensayo son la medición cuantitativa de VIH-1, virus de la hepatitis C y virus de la hepatitis B.

IMPORTANCIA DE LA FLORA BACTERIANA Y MICÓTICA NORMALES

Los microorganismos como *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella typhi* y especies de *Brucella* se consideran patógenos siempre que se encuentran en pacientes. Sin embargo, muchas infecciones son causadas por microorganismos que son miembros permanentes o transitorios de la flora normal. Por ejemplo, la *E. coli* es parte de la flora gastrointestinal normal y también es la causa más común de infección del aparato urinario. De manera similar, la mayor parte de las infecciones bacterianas mixtas por anaerobios son causadas por microorganismos miembros de la flora normal.

El número relativo de microorganismos específicos en un cultivo es importante cuando los miembros de la flora normal son causa de la infección. Cuando se encuentra gran número de especies de bacilos gramnegativos, como *Klebsiella pneumoniae*, con algunas bacterias nasofaríngeas normales en un cultivo de esputo, los bacilos gramnegativos son fuertemente sospechosos como causa de neumonía; puesto que no es normal encontrar un número elevado de gramnegativos en el esputo o en la flora nasofaríngea, se deben identificar los microorganismos e informar su presencia. Por el contrario, los abscesos abdominales comúnmente contienen una distribución normal de microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios obligados representativos de la flora gastrointestinal. En estos casos no se justifica identificar todas las especies presentes; en lugar de ello, es apropiado informar "flora gastrointestinal normal".

Un pequeño número de levaduras comúnmente forma parte de la flora microbiana normal. Sin embargo, la presencia de otros hongos no es normal y, por tanto, se les debe identificar e informar. Los virus generalmente no forman parte de la flora normal, según se detecta con pruebas de laboratorio para diagnóstico microbiológico. Sin embargo, algunos virus latentes, por ejemplo, herpes simple o virus de vacunas elaboradas con virus vivos como el poliovirus, aparecen en ocasiones en cultivos para virus. En algunas partes del mundo, las muestras de heces comúnmente muestran evidencia de infección por parásitos. En estos casos tiene importancia el número relativo de parásitos respecto del cuadro clínico. La presencia de unos cuantos huevecillos en una muestra debe hacerse notar, pero en sí

mismo no obliga a un diagnóstico adicional ni a adoptar medidas terapéuticas.

Los miembros de la flora normal que por lo general están presentes en muestras de pacientes y que se pueden informar como "flora normal" se estudian en el capítulo 11.

AUXILIARES DE LABORATORIO PARA SELECCIONAR LA TERAPÉUTICA ANTIMICROBIANA

El antimicrobiano empleado inicialmente para el tratamiento de una infección se selecciona con base en la impresión clínica, luego que el médico se convence de que hay infección y se ha hecho un diagnóstico etiológico tentativo sobre bases clínicas. Con base en esta "mejor suposición" se puede seleccionar un fármaco tal vez eficaz (véase capítulo 10). Antes de administrar este fármaco se obtienen muestras para aislamiento del agente causal en el laboratorio. Según los resultados de estos exámenes, a veces es necesario seleccionar un fármaco diferente. La identificación de ciertos microorganismos uniformemente susceptibles al fármaco elimina la necesidad de pruebas adicionales y permite seleccionar el fármaco eficaz óptimo sólo con base en la experiencia. En otras circunstancias pueden ser útiles las pruebas de susceptibilidad a fármacos de los microorganismos aislados (véase capítulo 10).

La prueba de susceptibilidad mediante difusión en disco, efectuada comúnmente, se debe emplear con juicio e interpretar con restricciones. En general, sólo un miembro de cada clase principal de fármacos está representado. Para los estafilococos se emplean penicilina G, nafcilina, cefalotina, eritromicina, gentamicina y vancomicina. Para los bacilos gramnegativos se incluyen ampicilina, cefalotina y cefalosporinas de segunda y tercera generación, piperacilina y otras "penicilinas antipseudomonas", trimetoprim-sulfametoxazol, fluoroquinolonas y aminoglucósidos (amikacina, tobramicina, gentamicina). Para infecciones de vías urinarias con bacilos gramnegativos se pueden añadir nitrofurantoina, quinolonas y trimetoprim. La selección de los fármacos que deben incluirse en una batería ordinaria de pruebas de susceptibilidad debe basarse en patrones de susceptibilidad de microorganismos aislados en el laboratorio, tipo de infección (contraída en la comunidad o nosocomial) y análisis costo-eficacia para la población de pacientes.

Los aislados de *B. fragilis* y otras bacterias anaerobias algunas veces se prueban sistemáticamente en cuanto a susceptibilidad a los antimicrobianos: los métodos para probar la susceptibilidad sólo se han estandarizado para laboratorios de referencia; los resultados de un laboratorio que emplea un método pueden diferir ampliamente de los resultados de otro laboratorio que utiliza un método diferente sobre cepas idénticas; y aún no se han correlacionado los resultados de pruebas de susceptibilidad que indican eficacia clínica.

La magnitud de la inhibición de la zona de crecimiento varía con las características moleculares de fármacos diferentes. Por tanto, la extensión de la zona de un fármaco no se puede comparar con la extensión de la zona de otro que actúa sobre el mismo microorganismo. Sin embargo, para cualquier fármaco la extensión de la zona puede compararse con un estándar, a condición de que medio, magnitud del inóculo y otras condiciones sean cuidadosamente controladas. Esto permite definir, en la técnica de difusión en disco, un diámetro mínimo de la zona de inhibición que denota "susceptibilidad" de un aislado para cada fármaco.

La prueba en disco mide la capacidad del fármaco para inhibir el crecimiento de la bacteria. Los resultados se correlacionan razonablemente bien con la respuesta terapéutica en aquellos procesos patológicos donde las defensas del cuerpo pueden, con frecuencia, eliminar microorganismos infecciosos.

En pocos tipos de infecciones humanas, los resultados de las pruebas en disco tienen escaso valor (y pueden ser erróneos) debido a que se requiere un fármaco con efecto bactericida para la curación. Ejemplos notables son la endocarditis infecciosa, osteomielitis aguda e infecciones graves en un hueso cuyas defensas antibacterianas son inadecuadas, por ejemplo, personas con enfermedad neoplásica que han recibido tratamiento con radiación o quimioterapia antineoplásica, o personas a quienes se administran corticosteroides en grandes dosis y están inmunosuprimidas.

En lugar de una prueba en disco se puede utilizar el procedimiento una prueba semicuantitativa de concentración inhibitoria mínima (CIM). Esta última mide con mayor exactitud la concentración del antibiótico necesario para inhibir el crecimiento de un inóculo estandarizado bajo condiciones definidas. Se emplea un método de microdilución semiautomatizado en el cual se disuelven cantidades definidas de un fármaco en un volumen pequeño, medida de caldo de cultivo y se inocula con un número estandarizado de microorganismos. Se considera como el punto límite de concentración inhibitoria mínima, al último pozo de caldo (concentración más baja del fármaco) que permanece transparente, es decir, libre de crecimiento microbiano. La concentración inhibitoria mínima proporciona una mejor estimación de la cantidad probable del fármaco requerida para inhibir el crecimiento *in vivo* y, por tanto, ayuda a establecer el régimen de dosis necesario para el paciente.

Además, se pueden estimar los efectos bactericidas mediante subcultivo del caldo transparente sobre medios sólidos libres de antibióticos. El resultado, por ejemplo, una reducción de unidades formadoras de colonias de 99.9% por debajo del control, se denomina la concentración bactericida mínima (CBM).

La selección de un fármaco bactericida o de una combinación de fármacos para cada paciente se puede guiar mediante pruebas especializadas de laboratorio. Estas pruebas miden la tasa de muerte o la proporción de la población microbiana muerta en un tiempo determinado.

En infecciones de las vías urinarias es más importante la actividad antibacteriana en la orina que en el suero. La desaparición de los microorganismos infectantes de la orina durante el tratamiento puede servir como un indicador parcial de la concentración del fármaco.

DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN SEGÚN EL SITIO ANATÓMICO

Heridas, tejidos, huesos, abscesos y líquidos

El estudio microscópico de frotis y cultivos de las muestras procedentes de heridas o de abscesos, con frecuencia da indicaciones tempranas e importantes acerca de la naturaleza de los microorganismos infectantes y, por tanto, ayuda a seleccionar a los antimicrobianos. Las muestras de biopsia de tejido recolectadas con propósitos diagnósticos también deben someterse a estudio bacteriológico y examen histológico. Estas muestras para examen bacteriológico se mantienen libres de fijadores y desinfectantes, se trituran y cultivan por diferentes métodos.

El pus en abscesos cerrados, o de tejidos blandos no drenados, por lo general sólo contiene una cepa como agente causal; con mayor frecuencia estafilococos, estreptococos o bacilos entéricos gramnegativos. Lo mismo es cierto en la osteomielitis aguda, donde los microorganismos a menudo pueden cultivarse en la sangre antes de que la infección se haga crónica. Con frecuencia se encuentra una gran cantidad de microorganismos en abscesos abdominales y en abscesos contiguos a las superficies mucosas, y también en las heridas abiertas, por lo que es difícil decidir en estos casos cuáles son los microorganismos significativos. Cuando las lesiones supurantes profundas, como osteomielitis crónica, drenan a las superficies exteriores a través de un trayecto o fístula, la flora de la superficie por la cual drena la lesión no debe confundirse con la de la lesión profunda. En vez de eso, se deben analizar las muestras de la infección primaria a través de tejido sano.

El examen bacteriológico del pus de lesiones cerradas o profundas debe incluir cultivo por métodos anaeróbicos. Las bacterias anaerobias (bacteroides, peptoestreptococos) a veces desempeñan una función causal fundamental, y casi siempre se encuentra una mezcla de anaerobios.

Los métodos empleados para cultivos deben ser adecuados para la recuperación semicuantitativa de bacterias comunes y también para recuperar microorganismos especiales, incluso micobacterias y hongos. La piel y las mucosas erosionadas a menudo son sitios de infección por levaduras u hongos. La *Candida*, *aspergilus* y otras levaduras u hongos pueden observarse en el microscopio en frotis o raspados de las áreas bajo sospecha y pueden crecer en cultivos. El tratamiento de una muestra con KOH y calcofluor blanco incrementa en gran medida la observación de levaduras y mohos en la muestra.

Los exudados recolectados en las cavidades pleural, peritoneal, pericardial o sinovial deben aspirarse con técnica aséptica. Si el material es purulento, se efectúa de manera directa frotis y cultivo. Si el líquido es claro se puede centrifugar a gran velocidad durante 10 min y emplear el sedimento para teñir frotis y cultivarlo. El método de cultivo que se utilice debe ser adecuado para el crecimiento de los microorganismos sospechados con los datos clínicos,

por ejemplo, micobacterias, microorganismos anaerobios, así como también las bacterias piógenas comúnmente encontradas. Algunas muestras de líquido se coagulan, y podría ser necesario el cultivo de una muestra anticoagulada. Los siguientes resultados químicos hematológicos sugieren infección: densidad específica mayor de 1.018; contenido de proteínas mayor de 3 g/dL (que casi siempre coagula); y cifra de células mayor de 500 a 1 000/ μ L. Los leucocitos polimorfonucleares predominan en infecciones piógenas agudas no tratadas; los linfocitos o monocitos predominan en infecciones crónicas. Los transudados resultantes del crecimiento neoplásico pueden semejar exudados infecciosos porque aparecen sanguinolentos o purulentos y se coagulan en reposo. El estudio citológico de frotis o de porciones del centrifugado de células puede mostrar la naturaleza neoplásica del proceso.

Sangre

Puesto que la bacteriemia con frecuencia implica una enfermedad potencialmente mortal, es indispensable su detección temprana. El hemocultivo es el procedimiento que por sí mismo tiene mayor importancia para detectar infección sistémica causada por bacterias. Proporciona información valiosa para el manejo de pacientes febriles y con enfermedad aguda, con o sin síntomas y signos de localización, y es indispensable en todo paciente en quien se sospecha endocarditis infecciosa, aun si no parece tener enfermedad grave o aguda. Además de su significado diagnóstico, la recuperación de un agente infeccioso de la sangre suministra ayuda invaluable para determinar la terapéutica antimicrobiana. Por tanto, es necesario esforzarse para aislar los microorganismos causantes de la bacteriemia.

En personas sanas, las muestras obtenidas de manera apropiada son estériles. Aunque en ocasiones los microorganismos de la flora respiratoria y gastrointestinal normal entran a la sangre, son eliminados con rapidez por el sistema reticuloendotelial. Estos microorganismos transitorios pocas veces afectan la interpretación de los resultados de un hemocultivo. Si se obtiene algún microorganismo en un hemocultivo, este hecho tiene gran significado clínico a condición de excluir contaminación. La contaminación de los hemocultivos con flora normal de la piel, con frecuencia se debe a errores en el procedimiento para recolectar la sangre. Por tanto, es indispensable para recolectar la sangre recolectar sangre.

Las siguientes reglas, estrictamente aplicadas, producen resultados confiables:

- 1) Empleo de una técnica aséptica rigurosa. Uso de guantes; no necesariamente estériles.
- 2) Aplicación de un torniquete y localización de una vena fija por palpación. Liberar el torniquete mientras se prepara la piel.
- 3) Preparar la piel para venopunción mediante limpieza con alcohol isopropílico al 70 a 95% o etanol al 70%. Emplear tintura de yodo al 2% o alguna preparación yodófora, iniciar en el sitio de venopunción y limpiar la piel en círculos concéntricos de diámetro cada vez mayor. Mantener la preparación yodada húmeda sobre la piel al menos durante 1 min. No tocar la piel después de haber sido preparada.

- 4) Volver a aplicar el torniquete, ejecutar la venopunción y (para adultos) extraer alrededor de 20 mL de sangre. Liberar el torniquete.
- 5) Inyectar la sangre a frascos para cultivo aeróbico y anaeróbico.
- 6) Enviar las muestras al laboratorio con prontitud, o colocarlas en una incubadora a 37 °C.

Varios factores determinan si el hemocultivo producirá resultados positivos: volumen de sangre cultivada, dilución de la sangre en el medio de cultivo, uso de medios de cultivo aerobio y anaerobio, y duración de la incubación. Para adultos, por lo general se recolecta una muestra de 20 mL de sangre; la mitad se coloca en un frasco para cultivo aeróbico y la otra mitad en uno para cultivo anaeróbico, un par de frascos constituye un hemocultivo. Sin embargo, a veces se requieren volúmenes diferentes de sangre para los diversos sistemas de hemocultivo que existen. Un sistema de hemocultivo más usado utiliza frascos con 5 mL en lugar de 10 mL de sangre. La dilución óptima de sangre en un medio de cultivo líquido es de 1:300 a 1:150; esto reduce al mínimo los efectos de los sistemas antibacterianos presentes, como anticuerpos, complemento y leucocitos. Ya que estas diluciones tan grandes son imprácticas en el hemocultivo, la mayor parte de estos medios contiene 0.05% de sulfonato sódico de polianetol (SPS), que inhibe a los sistemas antibacterianos. Sin embargo, el SPS también inhibe el crecimiento de neisserias, algunos cocos anaerobios grampositivos y de la *Gardnerella vaginalis*. Cuando se sospecha la presencia de algunos de estos microorganismos, se deben emplear sistemas alternos de hemocultivo sin SPS.

Los hemocultivos se incuban durante 5 a 7 días. Los sistemas automatizados de cultivo de sangre utilizan diversos métodos para detectar cultivos positivos. Estos métodos automatizados permiten la vigilancia frecuente de los cultivos, tan frecuente como cada pocos minutos, y la detección oportuna de cultivos positivos. Los medios en los sistemas automatizados de cultivo de sangre son tan ricos, y los sistemas de detección tan sensibles, que los cultivos de sangre por medio de sistemas automatizados no necesitan ser procesados por más de cinco días. En general, los subcultivos están indicados sólo cuando la máquina indica que el cultivo es positivo. Los sistemas manuales de cultivo en sangre son obsoletos y es probable que sólo se empleen en laboratorios de países en desarrollo que carecen de recursos para comprar sistemas automatizados de cultivo de sangre. En los sistemas manuales, los frascos de cultivo de sangre se examinan 2 o 3 veces al día durante los primeros dos días, y los demás días diariamente, durante una semana. En el método manual, podrían ser necesarios subcultivos ciegos de los frascos de cultivo de sangre en los días 2 y 7.

El número de muestras de sangre que debe extraerse para cultivo y el tiempo para efectuar esto depende en parte de la gravedad de la enfermedad clínica. En infecciones hiperagudas, por ejemplo septicemia por gramnegativos con estado de choque o septicemia por estafilococos, es apropiado cultivar dos muestras de sangre recolectadas de diferentes sitios anatómicos en un plazo de 5 a 10 min. En otras infecciones bacteriémicas, por ejemplo, endocarditis subaguda, se deben recolectar tres muestras de sangre en 24 h. Un total de tres hemocultivos muestra la bacteria in-

fectante en más de 95% de los pacientes bacteriémicos. Si los tres cultivos iniciales son negativos y se sospecha absceso oculto, fiebre de origen desconocido o alguna otra infección no evidente, se deben cultivar muestras adicionales de sangre antes de iniciar la terapéutica antimicrobiana.

Se dispone de varios tipos de frascos para hemocultivo que contienen resinas u otras sustancias capaces de absorber la mayor parte de los antimicrobianos y también algunos factores antimicrobianos del huésped. Las indicaciones para el uso de frascos con resina incluyen lo siguiente: paciente clínicamente séptico a quien se administra terapéutica antimicrobiana y que ya ha tenido resultados negativos en algunos hemocultivos; paciente con evidencia clínica de endocarditis y hemocultivo negativo, a quien se administran antimicrobianos; paciente admitido al hospital con septicemia a quien se ha administrado terapéutica antimicrobiana antes de la admisión. Los frascos que contienen resina no deben emplearse para seguir la eficacia del tratamiento puesto que la resina puede absorber los antimicrobianos en la muestra y permitir que el cultivo se tome positivo a pesar de la terapéutica clínicamente eficaz.

Es necesario determinar el significado de un hemocultivo positivo. Los siguientes criterios pueden ser útiles para diferenciar los "verdaderos positivos" de las muestras contaminadas:

- 1) Crecimiento del mismo microorganismo en cultivos repetidos obtenidos en diferentes tiempos y tomados de sitios anatómicos distantes sugieren fuertemente bacteriemia verdadera.
- 2) El crecimiento de microorganismos diferentes en frascos de cultivo diferentes sugiere contaminación, pero en ocasiones se debe a problemas clínicos como fistulas enterovasculares.
- 3) El crecimiento de flora normal de la piel, por ejemplo, *Staphylococcus epidermidis*, difteroides (corinebacterias y propionibacterias), o cocos anaerobios grampositivos, en sólo uno de varios cultivos sugiere contaminación. El crecimiento de estos microorganismos en más de un cultivo o muestras procedentes de un paciente con prótesis vascular aumenta la probabilidad de que exista bacteriemia clínicamente significativa.
- 4) Los microorganismos como el estreptococo viridans o los enterococos tal vez crezcan en hemocultivos de los pacientes bajo sospecha de padecer endocarditis, y los bacilos gramnegativos como *E. coli* en los hemocultivos de pacientes con septicemia por gramnegativos; por tanto, cuando se encuentran estos microorganismos "esperados", es mayor la probabilidad de que sean etiológicamente significativos.

Prácticamente todas las especies de bacterias han crecido alguna vez en el hemocultivo. Las siguientes son las encontradas con mayor frecuencia: estafilococos, incluso *Staphylococcus aureus*; estreptococos viridans; enterococos, incluso *Enterococcus faecalis*; bacterias entéricas gramnegativas, incluso *E. coli* y *K. pneumoniae*; *Pseudomonas aeruginosa*; neumococos y *H. influenzae*. Las especies de *Candida*, otras levaduras y algunos hongos dimorfos, como el *Histoplasma capsulatum*, crecen en hemocultivo, pero muchos hongos pocas veces, si acaso alguna, se aíslan en la

sangre. En ocasiones, el citomegalovirus y el virus del herpes simple pueden cultivarse en la sangre, pero la mayor parte de virus y rickettsias, así como clamidias no se cultivan en la sangre. Los protozoarios y los helmintos parásitos generalmente no crecen en el hemocultivo estándar.

En la mayor parte de los tipos de bacteriemia no es útil el examen directo del frotis sanguíneo. El examen cuidadoso de frotis teñidos con Gram del sobrenadante de sangre con anticoagulantes, en ocasiones muestra bacterias en pacientes con infecciones por *S. aureus*, septicemia por clostridios o fiebre recidivante. En algunas infecciones microbianas (p. ej., carbunco, peste bubónica, fiebre recidivante, rickettsiosis, leptospirosis, espirolosis, psitacosis), la inoculación de sangre en animales de experimentación puede dar resultados positivos con mayor facilidad que en el cultivo.

Orina

El examen bacteriológico de la orina se practica principalmente cuando los signos o síntomas orientan hacia una infección de vías urinarias, insuficiencia renal o hipertensión. Siempre se debe efectuar en personas bajo sospecha de infección sistémica o fiebre de origen desconocido. Es deseable en mujeres durante el primer trimestre del embarazo.

La orina secretada en los riñones es estéril salvo que el riñón esté infectado. La orina no contaminada de la vejiga también normalmente es estéril. Sin embargo, la uretra contiene una flora normal, de modo que la orina excretada comúnmente contiene un pequeño número de bacterias. Puesto que es necesario distinguir entre microorganismos contaminantes de microorganismos etiológicamente importantes, sólo el examen cuantitativo de orina puede producir resultados significativos.

Los siguientes pasos son fundamentales en el examen apropiado de la orina.

A. Recolección apropiada de la muestra

La recolección apropiada de la muestra es el paso más importante en un cultivo de orina. En mujeres, las muestras adecuadas se pueden recolectar de la siguiente manera:

- 1) Tener listos dos vasos de papel encerado, cada uno con cinco torundas de algodón. En un vaso, colocar alrededor de 5 mL de jabón líquido y 20 a 30 mL de agua de la llave. Colocar la misma cantidad de agua de la llave en el segundo vaso. Una alternativa es tener lista una charola con dos conjuntos de cinco apósitos de gasa humedecidos con agua de la llave; un conjunto debe tener jabón líquido. Tener a la mano un recipiente desechable limpio no estéril para recolectar orina.
- 2) Separar los labios mayores con dos dedos y mantenerlos separados durante el proceso de lavado y recolección. Frotar la región de la uretra una vez desde adelante hacia atrás con cada una de las cinco torundas o esponjas enjabonadas. A continuación frotar una vez desde adelante hasta atrás con cada una de las cinco torundas o esponjas humedecidas con agua de la llave (desechar las torundas o esponjas en un recipiente para desperdicios, ya que pueden bloquear el excusado).

- 3) Iniciar el chorro de orina y, utilizando un frasco, recolectar una muestra a mitad del chorro; marcarlo con una etiqueta correctamente.

Este método se utiliza también para recolectar muestras en varones y el prepucio se debe mantener retraído en varones no circuncidados.

La cateterización entraña el riesgo de introducir microorganismos en la vejiga, pero a veces es inevitable. El urólogo puede obtener muestras separadas de los riñones y uréter derecho e izquierdo con un catéter durante la cistoscopia. Cuando se instala un catéter permanente y un sistema cerrado de recolección, la orina se debe obtener por aspiración del catéter con aguja y jeringa estériles, no de la bolsa de recolección. Para resolver problemas diagnósticos, la orina se puede aspirar directamente de la vejiga llena, según técnica aséptica por medio de punción suprapúbica en la pared abdominal.

Para la mayor parte de los exámenes, 0.5 mL de orina uretral o 5 mL de orina excretada espontáneamente son suficientes. Puesto que varios tipos de microorganismos se multiplican con rapidez en la orina a temperatura corporal o a temperatura ambiente, las muestras se deben entregar al laboratorio con prontitud o refrigerar no más de una noche.

B. Examen microscópico

Mucho se puede aprender del examen simple microscópico de la orina. Una gota de orina fresca no centrifugada se coloca sobre un portaobjetos, se tapa con un cubreobjetos y se examina con luz de poca intensidad con el objetivo seco fuerte de un microscopio clínico ordinario; esto puede revelar leucocitos, células epiteliales y bacterias si se encuentran más de 10^5 /mL. El hallazgo de 10^5 microorganismos/mL en una muestra de orina recolectada y examinada de manera apropiada es evidencia clara de infección activa del aparato urinario. Los bacilos gramnegativos en un frotis de orina de mitad del chorro no centrifugada teñido con Gram diagnostican infección en el aparato urinario.

La centrifugación breve de la orina sedimenta con rapidez a los pirocitos, que a veces también pueden contener bacterias y, por tanto, ayudar en el diagnóstico microscópico de la infección. La presencia de otros elementos formados en el sedimento, o la presencia de proteinuria, es de poca ayuda directa en la identificación específica de infecciones activas del aparato urinario. Los pirocitos pueden presentarse sin bacterias e, inversamente, puede haber bacteriuria sin piuria. La presencia de muchas células epiteliales escamosas, lactobacilos o flora mixta en el cultivo sugiere recolección inapropiada de la orina.

Algunas veces, la tira reactiva de orina contiene esterasa de leucocitos y nitrito, medidas de leucocitos polimorfonucleares y bacterias, respectivamente, en la orina. Las reacciones positivas sugieren una infección urinaria bacteriana.

C. Cultivo

El cultivo de orina, para ser significativo, se debe efectuar cuantitativamente. La orina recolectada de manera apropiada se cultiva en cantidades medidas sobre medio sólido, y las colonias que aparecen después de la incubación se cuentan para indicar el número de bacterias por mililitro. El pro-

cedimiento habitual es extender 0.001 a 0.05 mL de orina no diluida sobre placas de agar sangre y otros medios sólidos para cultivo cuantitativo. Todos los medios se incuban durante la noche a 37 °C; después se compara la densidad de crecimiento con fotografías de diferentes densidades de crecimiento para bacterias similares. lo que produce datos semicuantitativos.

En la pielonefritis activa, el número de bacterias en la orina recolectada mediante catéter uretral es relativamente escaso. En tanto se acumulan en la vejiga, las bacterias se multiplican con rapidez y pronto alcanzan cifras mayores de 10^5 /mL, mucho más de lo que podría suceder como resultado de contaminación por la flora uretral, de la piel o del aire. Por tanto, hay acuerdo general de que cuando se cultivan más de 10^5 colonias/mL de una muestra de orina apropiadamente recolectada y cultivada, esto constituye evidencia de infección activa del aparato urinario. La presencia de más de 10^5 bacterias/mL del mismo tipo en dos muestras consecutivas establece el diagnóstico de infección urinaria activa con una certeza de 95%. Si se cultiva un número menor de bacterias, se indica repetir el examen de orina para establecer la presencia de infección.

La presencia de menos de 10^4 bacterias/mL, incluso de varios tipos diferentes de bacterias, sugiere que los microorganismos provienen de la flora normal y son contaminantes, generalmente por una muestra recolectada de manera inapropiada. La presencia de 10^3 /mL de un solo tipo de bacilo entérico gramnegativo sugiere infección del aparato urinario, sobre todo en varones. En ocasiones, las mujeres jóvenes con disuria aguda e infección urinaria presentan 10^2 a 10^3 /mL. Si los cultivos son negativos pero los signos clínicos de infección de las vías urinarias están presentes, el "síndrome uretral", obstrucción del uréter, tuberculosis de la vejiga u otras enfermedades deben considerarse.

Líquido cefalorraquídeo

La meningitis es una de las urgencias médicas mayores, por lo cual es indispensable su diagnóstico temprano, rápido y preciso. El diagnóstico de la meningitis depende de mantener un elevado índice de sospecha, obtener de manera apropiada muestras adecuadas y del examen rápido de la muestra. Debido a que el riesgo de muerte o daño irreversible es muy alto a menos que se inicie de inmediato el tratamiento, pocas veces hay una segunda oportunidad de obtener muestras antes del tratamiento, que son indispensables para el diagnóstico etiológico específico y un manejo óptimo.

El problema más urgente del diagnóstico es la diferenciación entre meningitis bacteriana purulenta aguda de la meningitis "aséptica" y la granulomatosa. Por lo general, la decisión inmediata se basa en la cifra de células, concentración de glucosa y contenido de proteínas en el líquido cefalorraquídeo, y los resultados de la búsqueda de microorganismos con microscopio (véase caso 1, capítulo 48). La impresión inicial puede modificarse por los resultados del cultivo, pruebas serológicas y otros procedimientos de laboratorio. En la evaluación de los resultados de las determinaciones de glucosa en el líquido cefalorraquídeo se debe considerar la concentración simultánea de glucosa en sangre. En algunas neoplasias del sistema nervioso central dis-

minuye la concentración de glucosa en el líquido cefalorraquídeo.

A. Muestras

Tan pronto como se sospecha una infección del sistema nervioso central, se deben obtener muestras de sangre y líquido cefalorraquídeo para cultivo. Para recolectar el líquido cefalorraquídeo, se debe practicar punción lumbar con técnica aséptica estricta. Tener cuidado de no provocar compresión del bulbo raquídeo por extracción demasiado rápida de líquido cuando la presión intracraneal está muy aumentada. Por lo general, el líquido cefalorraquídeo se recolecta en 3 a 4 porciones de 2 a 5 mL cada una, en tubos estériles. Esto permite la realización más conveniente y confiable de la prueba para determinar los diferentes valores necesarios para planear un curso de acción.

B. Examen microscópico

Los frotis se elaboran a partir de líquido cefalorraquídeo fresco no centrifugado, que parece turbio, o del sedimento del líquido cefalorraquídeo centrifugado. Estos frotis se tiñen con Gram. El estudio de los frotis tiñidos bajo objetivo de inmersión puede revelar diplococos gramnegativos intracelulares (meningococos), diplococos grampositivos intra y extracelulares de forma lanceolada (neumococos) o pequeños bacilos gramnegativos (*H. influenzae* o bacilos entéricos gramnegativos).

C. Detección de antígenos

En el líquido cefalorraquídeo se puede detectar el antígeno criptocócico mediante una prueba de aglutinación en latex.

D. Cultivo

Los métodos de cultivo empleados deben favorecer el crecimiento de microorganismos encontrados con más frecuencia en la meningitis. El agar con sangre de borrego y el agar chocolate usados juntos son medios en los cuales crecen casi todas las bacterias y hongos que causan meningitis. El diagnóstico de meningitis tuberculosa requiere cultivo en medios especiales (véanse cuadro 47-2 y capítulo 24). Se puede intentar el aislamiento de los virus en la meningitis o meningoencefalitis asépticas. A veces se aísla con éxito virus del líquido cefalorraquídeo en infecciones causadas por el virus de la parotiditis, echovirus o coxsackievirus.

E. Examen de seguimiento del líquido cefalorraquídeo

El retorno a la normalidad de la concentración de glucosa y de la cifra de células en el líquido cefalorraquídeo es una buena evidencia de tratamiento adecuado. La respuesta clínica es muy importante.

Secreciones respiratorias

Con frecuencia, los síntomas o signos orientan a la afección de una porción particular de las vías respiratorias, y las muestras se eligen en consecuencia. Para la interpretación de los resultados de laboratorio es necesario considerar la flora microbiana normal del área de donde se recolectaron las muestras.

A. Muestras

1. **Faringe:** la mayor parte de los "ardores de garganta" se deben a infección viral. Sólo 5 a 10% de éstos en adultos y 15 a 20% en niños se relacionan con infecciones bacterianas. El hallazgo de un exudado folicular amarillento o de una membrana grisácea deben despertar la sospecha de infección por estreptococo β hemolítico del grupo A de Lancefield, difteria, fusospiroquetas o candidiasis; estos signos también pueden presentarse en la mononucleosis infecciosa, adenovirus y otras infecciones virales.

Se toma muestra con hisopo de cada región amigdalina y de la pared posterior de la faringe. La flora faríngea normal incluye abundantes estreptococos viridantes, neisserias, difteroides, estafilococos, bacilos gramnegativos pequeños y muchos otros microorganismos. El examen microscópico de los frotis procedentes de la faringe tiene poco valor en la infección estreptocócica, debido a que toda la región faríngea alberga estreptococos de manera predominante.

Los cultivos del frotis faríngeo son más confiables cuando se inoculan con prontitud después de ser recolectados. Se pueden emplear medios selectivos para estreptococos para cultivar los microorganismos del grupo A. En el estriado de medio selectivo para estreptococos o placas de cultivo con agar sangre, es indispensable dispersar por completo un inóculo pequeño y evitar el crecimiento excesivo de la flora normal. Esto se puede lograr con facilidad al descargar el hisopo en un área pequeña de la placa y utilizar un segundo aplicador estéril (o asa bacteriológica estéril) para estriar la placa a partir de esta área. La detección de colonias β hemolíticas se facilita practicando cortes al agar (para lograr una reducción en la tensión del oxígeno) e incubando la placa durante dos días a 37 °C.

Los informes de laboratorio acerca del cultivo faríngeo deben comunicar los tipos de microorganismos prevalentes. Si se encuentran patógenos potenciales (p. ej., estreptococos β hemolíticos) en el cultivo es importante determinar su número aproximado. En la "faringitis estreptocócica" prevalecen los estreptococos del grupo A. Pocas colonias de estreptococos β hemolíticos a veces sólo corresponden a microorganismos "transitorios" en la faringe y no tienen significado patológico. Los estreptococos β hemolíticos del grupo A con frecuencia aparecen en los cultivos cuando los pacientes presentan enfermedades como difteria o mononucleosis infecciosa.

2. **Nasofaringe:** las muestras de la nasofaringe se estudian con poca frecuencia debido a que se deben emplear técnicas especiales para obtenerlas (véase Diagnóstico de infecciones virales, después). La tos ferina se diagnostica mediante cultivo del *B. pertussis* de lavados nasofaríngeo o nasal, o lo que es mejor, por amplificación PCR del DNA de *B. pertussis* en la muestra.
3. **Oído medio:** pocas veces se obtienen muestras del oído medio porque es necesaria la punción del tímpano. En la otitis media aguda, 30 a 50% de los líquidos aspirados son bacteriológicamente estériles. Las bacterias aisladas con mayor frecuencia son neumococos, *H.*

influenzae, *Moraxella catarrhalis* y estreptococos hemolíticos.

4. **Vías respiratorias inferiores:** las secreciones bronquiales y pulmonares de exudados se estudian con frecuencia mediante examen del esputo. El aspecto más confuso del examen del esputo es la casi inevitable contaminación con saliva y flora bucal; por tanto, el hallazgo de *Candida*, *S. aureus*, e incluso *Streptococcus pneumoniae* en el esputo de un paciente con neumonitis no tiene significado etiológico a menos que esté apoyado por el cuadro clínico. Las muestras de esputo significativas deben ser expectoradas de las vías respiratorias inferiores y ser macroscópicamente distintas de la saliva. La presencia de muchas células epiteliales escamosas sugiere contaminación intensa con saliva; un gran número de leucocitos polimorfonucleares (PMN) sugiere exudado purulento. El esputo puede inducirse mediante inhalación durante varios minutos de solución salina hipertónica tibia. En la neumonía acompañada por líquido en la pleura, este líquido pleural a veces es más confiable para obtener los microorganismos causantes en comparación con el esputo. Cuando se sospecha tuberculosis o infección por hongos, los microorganismos se pueden encontrar en el material de lavado gástrico (esputo deglutido) cuando no se hallan en el material expectorado.
5. **Aspiración transtraqueal, broncoscopia, biopsia de pulmón, lavado bronquioalveolar:** en estas muestras, la flora casi siempre refleja con precisión los eventos en las vías respiratorias inferiores. A veces se requieren muestras obtenidas por broncoscopia para el diagnóstico de neumonía por *Pneumocystis* o infección debida a *Legionella* u otros microorganismos.

B. Examen microscópico

Los frotis de estrías o granos purulentos del esputo teñidos con Gram o por un método acidorresistente pueden revelar los microorganismos causantes y PMN. Algunos microorganismos (p. ej., actinomicetos) se observan mejor en preparaciones frescas no teñidas. Se puede efectuar una prueba directa "quellung" para neumococos con suero polivalente en esputo fresco.

C. Cultivo

Los medios utilizados para cultivo del esputo deben ser adecuados para el crecimiento de bacterias (p. ej., neumococos, *Klebsiella*), hongos (como *Coccidioides immitis*), micobacterias (p. ej., *M. tuberculosis*) y otros microorganismos. Las muestras obtenidas por broncoscopia y biopsia de pulmón también deben cultivarse sobre otros medios (puede ser para anaerobios, *Legionella* y otros). Debe estimarse en la muestra la prevalencia relativa de los diferentes microorganismos. Sólo el hallazgo de un microorganismo predominante o el aislamiento simultáneo de un microorganismo del esputo y de la sangre puede establecer con claridad su participación en un proceso neumónico o supurante.

Muestras del aparato gastrointestinal

Los síntomas agudos que se refieren al aparato gastrointestinal, en particular náuseas, vómito y diarrea, suelen atri-

buirse a infección. En realidad, la mayor parte de dichos ataques se deben a intolerancia a alimentos o bebidas, enterotoxinas, fármacos o enfermedades sistémicas.

Muchos casos de diarrea infecciosa aguda se deben a virus que, en general, no pueden crecer en cultivo de tejidos. Por otro lado, muchos virus que pueden crecer en cultivo (p. ej., adenovirus, enterovirus) pueden multiplicarse en el intestino sin causar síntomas gastrointestinales. De manera similar, algunas bacterias entéricas patógenas pueden persistir en el intestino después de una infección aguda. Por tanto, a veces es difícil asignar una participación significativa a los agentes bacterianos o virales cultivados de las heces, en especial en enfermedades crónicas subagudas.

Estas consideraciones no deben desalentar al médico de intentar el aislamiento en el laboratorio de los microorganismos entéricos, pero constituye una advertencia de algunas dificultades comunes en la interpretación de los resultados.

El intestino grueso contiene una flora bacteriana normal excesivamente grande. Los microorganismos prevalentes son anaerobios (bacteroides, bacilos grampositivos y cocos grampositivos), entéricos gramnegativos, y el *S. faecalis*. Todo intento de recuperar bacterias patógenas de las heces implica separación entre los patógenos y la flora normal, en general con el empleo de medios diferenciales selectivos y cultivos de enriquecimiento. Las causas importantes de trastornos gastrointestinales agudos incluyen virus, toxinas (de estafilococos, clostridios, vibriónes, *E. coli* toxigénica), bacilos entéricos gramnegativos invasores, fermentadores lentos de lactosa, shigelas y salmonelas, así como campilobacterias. La importancia relativa de estos grupos de microorganismos difiere mucho en varias partes del mundo.

A. Muestras

Las heces y los raspados rectales son las muestras más disponibles. La bilis obtenida por drenaje del duodeno puede revelar infección de las vías biliares. En la inspección macroscópica de la muestra debe observarse la presencia de sangre, moco o helmintos. Los leucocitos observados en suspensiones de heces examinadas en el microscopio son un medio útil para diferenciar la diarrea infecciosa invasora de la no invasora. Hay que emplear técnicas especiales para la búsqueda de parásitos protozoarios y helmintos y sus huevecillos. Los frotis teñidos pueden revelar la prevalencia de leucocitos y ciertos microorganismos anormales, por ejemplo, *Candida* o estafilococos, pero no se pueden emplear para diferenciar entre las bacterias patógenas entéricas y la flora normal.

B. Cultivo

Las muestras deben estar suspendidas en caldo y cultivarse en medios ordinarios y también diferenciales (p. ej., agar de MacConkey, agar EMB) para permitir la separación entre los bacilos gramnegativos no fermentadores de lactosa y las otras bacterias entéricas. Si se sospecha infección por salmonela, la muestra también se coloca en un medio de enriquecimiento (p. ej., caldo F selenito) durante 18 h antes de sembrarlo en medios diferenciales (p. ej., agar de Hektoen entérico o shigela-salmonela). La *Yersinia enterocolitica* tiene mayor probabilidad de ser aislada después de almace-

nar la suspensión fecal durante dos semanas a 4 °C, pero puede aislarse sobre agar yersinia o shigela-salmonela incubado a 25 °C. Los vibriónes crecen mejor sobre agar tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa. Las campilobacterias se aíslan sobre agar de Camp o medio selectivo de Skirrow incubado a 40 a 42 °C en 10% de CO₂ con tensión de O₂ notablemente reducida. Las colonias bacterianas se identifican mediante métodos bacteriológicos estándar. La aglutinación de bacterias de las colonias sospechosas mediante antisueros específicos mezclados, con frecuencia es la manera más rápida de establecer la presencia de salmonelas o shigelas en el intestino.

Las muestras fecales se someten a aislamiento de enterovirus. También se debe cultivar un lavado o frotis nasofaríngeo.

Los parásitos intestinales y sus huevecillos se descubren mediante el estudio microscópico repetido de muestras de heces frescas. Las muestras requieren manejo especial en el laboratorio (véase capítulo 46).

Enfermedades transmitidas por vía sexual

En los varones, las causas de secreción genital por uretritis son *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*. En mujeres, la endocervicitis es causada por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*. Las úlceras genitales vinculadas con enfermedades tanto en varones como en mujeres, con frecuencia se deben a herpes simple, menos veces a sífilis o chancroide, raramente a linfogranuloma venéreo, y menos aún a granuloma inguinal. Cada una de estas enfermedades muestra una historia natural característica y evolución de las lesiones, pero cada una puede simular a la otra. El diagnóstico de laboratorio de la mayor parte de estas infecciones se estudia en otra parte de este libro. Algunas pruebas diagnósticas se mencionan en el cuadro 47-2.

A. Gonorrea

Un frotis teñido de un exudado uretral o cervical que muestre diplococos intracelulares gramnegativos es una indicación convincente de gonorrea. La sensibilidad es de casi 90% para varones y 50% para mujeres, así que el cultivo se recomienda para mujeres. El exudado, muestra rectal o de garganta se debe colocar de inmediato en una placa sobre medios especiales para producir *N. gonorrhoeae*. Se pueden llevar a cabo métodos moleculares para detectar DNA de *N. gonorrhoeae* en exudados uretrales o cervicales u orina, pero podrían presentarse pruebas falsas positivas de la detección de secuencias de DNA de *Neisseriae* no patógenas. Las pruebas serológicas no son útiles.

B. Infecciones genitales por clamidia

Véase después la sección acerca del diagnóstico de infecciones por clamidia.

C. Herpes genital

Véase el capítulo 33 y la sección acerca del diagnóstico de infecciones virales.

D. Sífilis

El examen en campo oscuro o la inmunofluorescencia del líquido tisular exprimido de la base del chancro pueden mostrar al *T. pallidum* típico. Las pruebas serológicas para sífilis se hacen positivas de 3 a 6 semanas después de la infección. Una prueba de floculación positiva (p. ej., VDRL o RPR) requiere confirmación. Una prueba positiva a anticuerpo antitreponémico inmunofluorescente (p. ej., FTA-ABS, aglutinación de partículas de *Treponema pallidum* [TP-PA], véase el capítulo 25) comprueba una infección sífilítica.

E. Chancroides

Los frotis de una lesión supurante casi siempre muestran flora bacteriana mixta. Los raspados de las lesiones deben cultivarse a 33 °C sobre 2 o 3 medios selectivos para *Haemophilus ducreyi*. Las pruebas serológicas no son útiles.

F. Granuloma inguinal

El *Calymatobacterium* (*Donovania*) *granulomatis*, agente causal de esta lesión proliferante, dura, granulomatosa, puede crecer en medio bacteriológico complejo, pero esto pocas veces se intenta y es muy difícil de realizar con éxito. La demostración histológica de los "cuerpos de Donovan" intracelulares en el material de la biopsia apoya con más frecuencia la impresión clínica. Las pruebas serológicas no son útiles.

G. Vaginitis

La vaginitis (vaginosis bacteriana) se relaciona con *G. vaginalis* o el *Mobiluncus* (véanse capítulo 22 y caso 13 en el capítulo 48) y se diagnostica en la sala de exploración por inspección de la secreción vaginal: la secreción 1) es grisácea y a veces espumosa, 2) tiene un pH mayor de 4.6, 3) tiene olor a amina ("a pescado") cuando se alcaliniza con hidróxido de potasio, y 4) contiene grandes células epiteliales cubiertas con bacilos gramnegativos o gramvariables: "células indicadoras". Observaciones similares se emplean para diagnosticar la infección por *Trichomonas vaginalis* (véase capítulo 46); los microorganismos motiles pueden observarse en las preparaciones en fresco o cultivadas de las secreciones genitales. La vaginitis por *Candida albicans* se diagnostica mediante el hallazgo de pseudohifas en una preparación de hidróxido de potasio de la secreción vaginal o por cultivo.

INFECCIÓN POR ANAEROBIOS

La mayor parte de las bacterias que constituyen la flora normal humana son anaerobios. Cuando se desplazan desde sus sitios normales al interior de los tejidos o las cavidades del cuerpo, los anaerobios pueden producir enfermedad. Ciertas características sugieren la infección por anaerobios: 1) Con frecuencia están contiguas a una superficie mucosa. 2) Tienden a involucrar mezclas de microorganismos. 3) Suelen producir infecciones en espacios cerrados, sea como

abscesos delimitados (pulmón, cerebro, pleura, peritoneo, pelvis) o alojados en las capas profundas de los tejidos. 4) El pus de las infecciones por anaerobios con frecuencia tiene olor fétido. 5) La mayor parte de los anaerobios importantes desde el punto de vista patológico, excepto los *Bacteroides* y algunas especies de *Prevotella*, son muy susceptibles a la penicilina G. 6) Las infecciones por anaerobios se favorecen por un riego sanguíneo disminuido, necrosis de tejidos y bajo potencial de óxido-reducción; todas estas condiciones también interfieren con la biodisponibilidad de los antimicrobianos. 7) Es indispensable usar métodos especiales para recolección, medios de transporte, así como técnicas y medios sensibles a anaerobios para aislar los microorganismos. De otra manera, el examen bacteriológico puede ser negativo o producir sólo aerobios incidentales (capítulo 22).

Los siguientes son sitios de infecciones importantes por anaerobios.

Aparato respiratorio

Las infecciones periodonticas, abscesos peribuccales, sinusitis y mastoiditis pueden implicar de manera predominante a *Prevotella melaninogenica*, fusobacterias y peptostreptococos. La aspiración de saliva puede producir neumonía necrosante, absceso pulmonar y empiema. Los antimicrobianos y el drenaje postural o quirúrgico son indispensables para el tratamiento.

Sistema nervioso central

Los anaerobios pocas veces producen meningitis, pero son causa común de absceso cerebral, empiema subdural y tromboflebitis séptica. Con frecuencia, los microorganismos se originan en las vías respiratorias por extensión directa o diseminación hematogena.

Infecciones intraabdominales y pélvicas

La flora del colon consta predominantemente de anaerobios, 10^{11} por gramo de heces. El *B. fragilis*, los clostridios y los peptostreptococos desempeñan una función principal en la formación de abscesos que se originan por perforación intestinal. La *Prevotella bivia* y la *Prevotella disiens* son importantes en los abscesos de la pelvis originados en los órganos genitales femeninos. Igual que el *B. fragilis*, estas especies a menudo son relativamente resistentes a la penicilina: por tanto, se deben emplear clindamicina, metronidazol u otros agentes eficaces.

Infecciones de la piel y del tejido blando

Las bacterias anaerobias y aerobias casi siempre se unen para formar infecciones sinérgicas (gangrena, fascitis necrosante, celulitis). Las modalidades más importantes del

tratamiento son drenaje quirúrgico, escisión y mejorar la circulación, en tanto que los antimicrobianos actúan como coadyuvantes. En general, es difícil señalar a un microorganismo específico como causante de lesión progresiva, puesto que generalmente están implicadas mezclas de microorganismos.

DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES POR CLAMIDIA

Aunque la *Chlamydia trachomatis*, la *Chlamydia pneumoniae* y la *Chlamydia psittaci* son bacterias, también son parásitos intracelulares obligados. Los cultivos y otras pruebas diagnósticas para la clamidia requieren procedimientos muy parecidos a los empleados en los laboratorios de diagnóstico virológico más que a los empleados en los laboratorios de bacteriología y micología. Por tanto, el diagnóstico de las infecciones por clamidia se estudia en una sección separada de este capítulo. El diagnóstico de laboratorio de las infecciones por clamidia también se estudia en el capítulo 28.

Muestras

Para las infecciones oculogenitales por *C. trachomatis*, las muestras para examen directo del cultivo deben recolectarse de los sitios infectados mediante raspado vigoroso de las células epiteliales superficiales afectadas. Los cultivos de secreción purulenta no son adecuados, y el material purulento debe limpiarse por completo antes de recolectar la muestra. Por tanto, para la conjuntivitis por inclusión se recolecta un raspado conjuntival: para la uretritis se obtiene una muestra por frotamiento de varios centímetros dentro de la uretra; y, para la cervicitis, la muestra se obtiene de la superficie de células columnares del conducto endocervical. Cuando se sospecha infección de la parte superior del aparato genital en mujeres, el raspado del endometrio suministra una buena muestra. El líquido obtenido mediante culdocentesis o aspiración de la trompa uterina tiene una producción baja de *C. trachomatis* en cultivo. La biopsia de la trompa uterina para cultivo diagnóstico es una herramienta de investigación más que un procedimiento rutinario.

Para la *C. pneumoniae* se emplean muestras de frotis nasofaríngeo (no faríngeo).

Para el linfogranuloma venéreo el material aspirado de los bubones o de ganglios fluctuantes suministra la mejor muestra para el cultivo.

Para la psitacosis, el cultivo de esputo, sangre o de material de biopsia puede mostrar *C. psittaci*.

Las muestras de tejido y frotis raspado deben colocarse en medio de transporte. El medio útil tiene 0.2 mol/L de sacarosa en 0.02 M de amortiguador de fosfato, pH 7.0 a 7.2, con 5% de suero de ternera fetal. Otros medios de transporte pueden ser igualmente adecuados. El medio de transporte debe contener antibióticos para suprimir otras bacte-

rias diferentes a las especies de *Chlamydia*. La gentamicina, 10 µg/mL, vancomicina, 100 µg/mL, y anfotericina B, 4 µg/mL, pueden emplearse en combinación puesto que no inhiben a la clamidia. Si las muestras no pueden procesarse con prontitud deben refrigerarse durante 24 h; de otro modo, se deben congelar a -60 °C o más bajo en tanto se procesan.

Microscopia y tinciones

El examen citológico es importante y útil sólo en el análisis de raspado conjuntival para el diagnóstico de conjuntivitis de inclusión y tracoma causados por *C. trachomatis*. Las inclusiones intracitoplásmicas típicas se pueden observar en las muestras teñidas con Giemsa. Se puede emplear los anticuerpos monoclonales conjugados con fluoresceína para el examen directo de las muestras procedentes del aparato genital, pero no son tan sensibles como los cultivos de clamidias o las pruebas diagnósticas moleculares.

Cultivo

Para el aislamiento de las especies de *Chlamydia* se recomiendan técnicas de cultivo celular. El cultivo de células de *C. trachomatis* y de *C. psittaci* casi siempre implica inoculación de las muestras clínicas en células McCoy tratadas con cicloheximida, en tanto que *C. pneumoniae* requiere células HL o HEP-2 pretratadas. En una técnica se emplea crecimiento confluyente de células McCoy sobre cubreobjetos de 13 mm en pequeños frascos desechables. El inóculo se coloca en frascos duplicados y se centrifuga sobre monocalapas a aproximadamente 3 000 × g seguida de incubación a 35 °C durante 48 a 72 h y se tiñe. Para detectar la *C. trachomatis* se emplean inmunofluorescencia, tinción con Giemsa, o tinción con yodo para investigar inclusiones intracitoplásmicas. Las técnicas de inmunofluorescencia son las más sensibles de las tres tinciones, pero requieren reactivos y microscopia para inmunofluorescencia. Giemsa es más sensible que el yodo, pero la microscopia es más difícil. La tinción con yodo es más fácil de emplear para las muestras de infección oculogenital y tiene una sensibilidad de casi 90% en comparación con las tinciones inmunofluorescentes del cultivo primario acopladas con tinción inmunofluorescente del subcultivo ciego del frasco duplicado.

Una segunda técnica de cultivo emplea células McCoy en placas de microdilución de 96 pozos y tinción con yodo o anticuerpos fluorescentes. Debido a que el área de la superficie de la monocalpa es menor y el inóculo más pequeño, el método de microdilución en placa es menos sensible que la técnica de frasco con cubreobjetos.

Las inclusiones de *C. trachomatis* se tiñen con yodo, pero las inclusiones de *C. pneumoniae* y *C. psittaci* no lo hacen (véase capítulo 28). Estas dos especies se distinguen de *C. trachomatis* por respuestas diferentes a la tinción con yodo y por su susceptibilidad a la sulfonamida. En cultivo se puede detectar *C. pneumoniae* mediante un anticuerpo monoclonal específico del género o, aún mejor, por anticuerpo monoclonal específico de especie. Las técnicas serológicas para la diferenciación de especies no son prácticas, aunque *C. trachomatis* se puede tipificar con el método de microinmunofluorescencia.

Detección de antígenos e hibridación de ácido nucleico

Los inmunoanálisis enzimáticos (EIA) se emplean para la detección de los antígenos de clamidia en las muestras de aparato genital de los pacientes con una enfermedad de transmisión sexual. Comparada con las técnicas de cultivo más sensibles para clamidia (véase antes), la EIA tiene una sensibilidad de alrededor de 90% y una especificidad de casi 97% cuando se emplea en poblaciones con una prevalencia de moderada a grande de infección (5 a 20%). En estas circunstancias, la sensibilidad, la especificidad y el valor predictivo positivo son comparables a los de la prueba DFA.

Los estuches comerciales con sondas moleculares no radioisotópicas para las secuencias RNA 16S de *C. trachomatis* se encuentran en el mercado para la detección directa de *C. trachomatis* en las muestras clínicas. La sensibilidad y la especificidad de este método es de casi 85% y 98 a 99%, respectivamente. Las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos también se han desarrollado y están disponibles en el mercado. Una prueba se basa en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y otra sobre la reacción en cadena de la ligasa (LCR). Estas pruebas son mucho más sensibles que el cultivo y otras pruebas sin amplificación, las cuales han requerido redefinición de la sensibilidad en la comprobación por laboratorio de la infección por clamidia. La especificidad de las pruebas parece cercana a 100% (véase capítulo 28).

Serología

La prueba de fijación del complemento (FC) se emplea ampliamente para el diagnóstico de la psitacosis. El diagnóstico serológico de las infecciones por clamidia se estudia en el capítulo 28.

El método de microinmunofluorescencia es más sensible que el de FC para medir anticuerpos antichlamidias. El título de anticuerpos IgG puede ser diagnóstico cuando se aumenta cuatro veces más de lo normal en suero de convalecientes y suero de cuadro agudo. Sin embargo, a veces es difícil demostrar un aumento en el título de IgG debido a los grandes títulos basales en la población sexualmente activa. La medición de anticuerpos IgM tiene particular utilidad en el diagnóstico de la neumonía por *C. trachomatis* en neonatos. Los lactantes nacidos de madres con infección por clamidia tienen anticuerpos IgG antichlamidia en suero procedente de la circulación materna. Los lactantes con infección ocular o de las vías respiratorias superiores muestran títulos escasos de IgM antichlamidia, en tanto que los lactantes con neumonía por clamidia tienen títulos IgM antichlamidias de 1:32 o mayores.

DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES VIRALES

El diagnóstico virológico requiere comunicación entre el médico y el laboratorio; además, depende de la calidad

de las muestras y de la información suministrada por el laboratorio.

La elección de los métodos para confirmación de una infección viral en el laboratorio depende de la etapa de la enfermedad (cuadro 47-4). Las pruebas de anticuerpos requieren muestras recolectadas a intervalos apropiados, y el diagnóstico a menudo no se confirma sino hasta la convalecencia. Se requiere aislamiento de virus o detección de antígenos cuando: 1) aparecen nuevas epidemias, como con influenza; 2) las pruebas serológicas no son útiles; y 3) varios agentes diferentes pueden causar la misma enfermedad clínica. Por ejemplo, la meningitis aséptica (no bacteriana) puede ser causada por muchos virus diferentes; de manera similar, los síndromes de enfermedades respiratorias pueden ser causados por muchos virus y también por micoplasma y otros agentes.

Los métodos diagnósticos basados en las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos pronto reemplazarán algunas, pero no todas, las técnicas de cultivo de virus. Sin embargo, la necesidad de recolección apropiada de muestras y la correcta interpretación de las pruebas no cambiará. Además, siempre habrá ocasiones en que sea deseable la recuperación del agente infeccioso.

El aislamiento de un virus puede no establecer la causa de una determinada enfermedad. Deben considerarse muchos otros factores. Algunos virus persisten en el huesped humano durante periodos prolongados y, por tanto, el aislamiento de herpesvirus, poliovirus, echovirus o coxsackievirus de un paciente con una enfermedad no diagnosticada no prueba que el virus sea la causa de la enfermedad. Antes de determinar que un agente en particular es la causa de un cuadro clínico específico se deben establecer patrones epidemiológico y clínico consistentes.

Muchos virus son más fáciles de aislar durante los primeros días de la enfermedad. Las muestras que se emplean en los intentos de aislamiento de virus se presentan en el cuadro 47-5. Una correlación entre el aislamiento del virus y la presencia de anticuerpos ayuda a establecer el diagnóstico.

Las muestras pueden refrigerarse hasta por 24 h antes de efectuar el cultivo de virus, con excepción del virus respiratorio sincitial y algunos otros. De otra manera, el material debe congelarse (de preferencia a -60 °C o más frío) si hay un retardo en enviar la muestra al laboratorio. Las muestras que no deben congelarse incluyen: 1) la sangre com-

Cuadro 47-4. Relación de la etapa de la enfermedad con la presencia del virus en las muestras y la aparición del anticuerpo específico

Etapa o periodo de la enfermedad	Virus detectable en muestras de prueba	Anticuerpo específico demostrable ¹
Incubación	Raras veces	No
Pródromo	Ocasionalmente	No
Inicio	Frecuentemente	Ocasionalmente
Fase aguda	Frecuentemente	Frecuentemente
Recuperación	Pocas veces	Por lo regular
Convalecencia	Muy pocas veces	Por lo regular

¹El anticuerpo puede detectarse muy al principio en personas previamente vacunadas

Cuadro 47-5. Infecciones virales: agentes, muestras y pruebas diagnósticas

Síndrome y virus	Muestra	Sistema de detección ¹	Comentarios
Enfermedades respiratorias			
Virus de la influenza	Lavado nasofaríngeo o raspado, esputo	Cultivo de células (PMK, MDCK), huevos embrionados. Prueba directa de anticuerpos fluorescentes (AF directo)	Virus detectado por hemadsorción de eritrocitos de cobayo en 2 a 4 días. HI o IF empleadas para identificar virus
Virus de la parainfluenza	Lavado nasofaríngeo o raspado, esputo	Cultivo de células (PMK, LLCMK ²). AF directo	Virus detectado por hemadsorción de eritrocitos de cobayo en 4 a 7 días. Se emplean HI, IF y HAI para identificar el virus
Virus sincitial respiratorio	Lavado nasofaríngeo	Cultivo de células (HEL, HeLa, HEP-2). AF directo	Por lo general efecto citopático (CPE) visible en 1 a 7 días. Detectar antígeno por EIA
Adenovirus	Lavado o raspado nasofaríngeo, heces, frotis conjuntival	Cultivo de células (HEP-2, HEK). AF directo	CPE por lo general visible en 3 a 7 días. IF se emplea para identificar el virus
Rinovirus	Lavado o frotis nasofaríngeo	Cultivo de células (HEL)	
Enterovirus	Lavado o frotis nasofaríngeo, heces	Cultivo de células (PMK, HEL)	Las pruebas serológicas se practican mejor con el virus aislado de pacientes; el coxsackievirus A rara vez crece en cultivo de tejidos
Enfermedades febriles			
Dengue, otros arbovirus	Suero, LCR, muestras de autopsia, vector (mosquito <i>Aedes</i>)	Ratón lactante, cultivo de células (Vero)	Muchos virus de este grupo son sumamente infectantes y fáciles de transmitir al personal del laboratorio. Algunos sólo deben estudiarse en laboratorios cerrados con acceso controlado. Empleo de serología
Fiebres hemorrágicas Véase capítulo 38			
	Suero, sangre	Ratón lactante, cultivo de células (Vero)	Véanse comentarios para enfermedades febriles
Coriomeningitis linfocítica (CML)			
Virus de la CML	Sangre, LCR	Cultivo de células (Vero, BHK), ratón lactante	IF y neutralización en ratones se emplean para identificar el virus
Fiebre de Lassa Virus de Lassa			
	Sangre, frotis nasofaríngeo, exudados	Cultivo de células (Vero, BHK)	El aislamiento del virus de Lassa está restringido a laboratorios cerrados con acceso controlado
Encefalitis Arbovirus			
	Suero, LCR, frotis nasofaríngeo	Ratón lactante, cultivo de células (Vero)	Véanse comentarios para enfermedades febriles
Enterovirus			
	Heces, raspado faríngeo, LCR	Cultivo de células (PMK, HEL)	
Virus de la rabia			
	Saliva, biopsia de cerebro	Ratón lactante, inmunofluorescencia IF directa	Es preferible IF directa porque la rapidez del diagnóstico es importante para el tratamiento eficaz
Herpesvirus			
	LCR	PCR	
Meningitis Enterovirus			
	Heces, LCR	Cultivo de células (PMK, HEL)	
Virus de la parotiditis			
	LCR, raspado nasofaríngeo, orina	Cultivo de células (PMK)	El virus se detecta por hemadsorción de eritrocitos de cobayo en 4 a 7 días. HAI e IF se emplean para identificar el virus en cultivo

Cuadro 47-5. Infecciones virales: agentes, muestras y pruebas diagnósticas (continúa)

Síndrome y virus	Muestra	Sistema de detección ¹	Comentarios
Mononucleosis infecciosa Virus Epstein-Barr (EB)	Sangre, frotis nasofaríngeo	Cultivo de células linfoides, PCR	El cultivo del virus EB no se practica de manera rutinaria en los laboratorios de virología clínica
Citomegalovirus	Sangre, orina, frotis faríngeo	Cultivo de células (HFF); cultivo en frasco cápsula, detección de antígeno, PCR	El cultivo de tejido en tubos debe mantenerse cuatro semanas; en frasco cápsula 24 h
Hepatitis (véase capítulo 37 para las pruebas disponibles e indicadas)			
Virus de la hepatitis A	Suero, heces	IEM, EIA, RT-PCR	
Virus de la hepatitis B	Suero	EIA	
Virus de la hepatitis C	Suero	EIA, PCR	
Virus de la hepatitis D	Suero	EIA	
Enteritis			
Rotavirus	Heces	EIA	
Agente Norwalk, calicivirus, astrovirus	Heces	IEM	
Enterovirus	Heces	Cultivo de células (HEL, PMK)	Neutralización rara vez se hace; por lo general requiere sueros pareados y virus aislado del paciente
Exantemas			
Virus de la varicela zoster	Líquido vesicular	Cultivo de células (HEK). El anticuerpo fluorescente directo es más sensible	CPE por lo general visible en cuatro días a dos semanas
Virus del sarampión	Raspado nasofaríngeo, sangre, orina	Cultivo de células (PMK, HEK). Anticuerpo fluorescente directo	CPE generalmente visible en 2 a 3 semanas
Virus de rubéola	Raspado nasofaríngeo, sangre, orina	Cultivo de células (AGMK, Vero)	
Viruela del mono, viruela bovina, vaccinia y tanapoxvirus	Líquido vesicular	Huevos embrionados, microscopía electrónica	
Virus del herpes simple	Vesículas, por lo general bucales o genitales	Cultivo de células (HFF, Vero)	El cultivo casi siempre se hace positivo en 24 a 72 h; la IF directa es rápida
Parotitis			
Virus de la parotiditis	Raspado nasofaríngeo, orina	Cultivo de células (PMK)	Véase comentario para meningitis
Anormalidades congénitas			
Citomegalovirus	Orina, raspado faríngeo	Véase mononucleosis infecciosa	
Rubéola	Raspado nasofaríngeo, LCR, sangre	Véase exantemas	
Conjuntivitis			
Herpes simple	Raspado conjuntival, lágrimas	Véase exantemas	
Herpes zoster			
Adenovirus		Véase enfermedades respiratorias	
Enterovirus			

Cuadro 47-5. Infecciones virales: agentes, muestras y pruebas diagnósticas (continúa)

Síndrome y virus	Muestra	Sistema de detección ¹	Comentarios
SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida)			
Virus de la inmunodeficiencia humana	Sangre, en particular leucocitos	Cultivo de células del paciente PBC	Anticuerpos para EIA, confirmado mediante Western blot. El virus casi siempre es detectable en PBC incluso cuando están presentes anticuerpos en el suero
Infecciones por papovavirus			
Papovavirus humano JC	Cerebro, orina, muestras de	Cultivo de células (HFF), EM	
Papovavirus humano BK	tejido, biopsias, verrugas		
Papilomavirus		DNA, IF	

Claves: **AGMK:** Células de riñón de mono verde africano
BHK: Células de riñón de hámster recién nacido
CF: Fijación del complemento
CPE: Efecto citopático
EIA: Inmunoanálisis enzimático
FA: Anticuerpo fluorescente
HAI: Inhibición de la adsorción hemática
HEK: Célula de riñón embrionario humano
HEL: Célula de pulmón embrionario humano
HeLA: Línea celular epitelial humana
HEp-2: Línea celular epitelial humana
HFF: Fibroblastos de prepucio humano

HI: Inhibición de la hemaglutinación
IEM: Microscopia electrónica utilizando anticuerpos marcados
IF: Anticuerpos inmunofluorescentes
LLC-MK2: Línea celular epitelial de mono
MDCK: Línea celular de riñón de perro
PBC: Células sanguíneas periféricas
PCR: reacción en cadena de la polimerasa
PMK: Cultivo primario de riñón de mono
RIA: Radioinmunoanálisis
RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa para transcripciones a inversa
Vero: Línea celular de riñón de mono

¹Una variedad de pruebas que utilizan suero de pacientes y antígenos virales conocidos se emplean para el diagnóstico. Pruebas similares que utilizan virus aislado del paciente y antisueros conocidos se emplean para identificar el agente infectante. Estas pruebas incluyen la neutralización de la replicación viral (inhibición de efecto citopático, CPEC, fijación del complemento y otras que se encuentran en la lista

plata extraída para determinación de anticuerpos, de la cual debe separarse el suero antes de congelarla; y 2) tejido para cultivo de órgano o células que deben mantenerse a 4 °C y enviar al laboratorio con prontitud.

Los virus se presentan en enfermedades respiratorias en las secreciones faríngeas o nasales. Los virus se pueden demostrar en el líquido y en raspados de la base de las vesículas. En infecciones oculares, el virus es detectable en frotis o raspado conjuntival y en las lágrimas. Las encefalitis suelen diagnosticarse con mayor facilidad a través de medios serológicos. Los arbovirus y los herpesvirus no se recuperan comúnmente del líquido cefalorraquídeo, pero el tejido cerebral del paciente con encefalitis viral puede producir el virus causante. En las enfermedades vinculadas con enterovirus, como la enfermedad del sistema nervioso central, la pericarditis aguda y la miocarditis, se pueden aislar virus de las heces, del frotis faríngeo o del líquido cefalorraquídeo. Las pruebas directas con anticuerpos fluorescentes son tan sensibles como el cultivo para detectar infecciones de vías respiratorias con virus respiratorio sincitial, virus de la influenza A y B, virus de la parainfluenza y adenovirus. Estas pruebas proporcionan respuestas en unas cuantas horas después de recolectar la muestra, en comparación con días para el cultivo de virus; por esta razón se han convertido en las pruebas preferidas para el diagnóstico etiológico de las infecciones virales del aparato respiratorio.

Examen directo de material clínico: microscopia y tinciones

Las enfermedades virales para las cuales el examen microscópico directo de las improntas o frotis ha mostrado utilidad incluyen la rabia, la infección por herpes simple y la infección varicela zoster. La tinción de los antígenos virales con inmunofluorescencia en un frotis de cerebro y en impresiones corneales de animal rabioso y de humanos es el método preferido para el diagnóstico de rutina de la rabia.

Cultivo de virus

A. Preparación del inóculo

Los materiales líquidos libres de bacterias como el líquido cefalorraquídeo, la sangre completa, el plasma o la sobrenadante de leucocitos pueden inocularse directamente en cultivo de células o después de diluirse con solución amortiguadora de fosfato (pH 7.6). La inoculación de huevos embrionados o de animales para el aislamiento del virus generalmente se efectúa sólo en laboratorios especializados.

El tejido se lava en medio de cultivo o agua estéril, se corta en pedazos pequeños con tijeras y se muele para hacer una pasta homogénea. Se añade diluyente en cantidades suficientes para hacer una concentración de 10 a 20% (peso/volumen). Esta suspensión puede centrifugarse a velocidad

baja (no >2 000 rpm) durante 10 min para sedimentar los residuos celulares insolubles. Se puede inocular el líquido sobrenadante; si hay bacterias, se eliminan según se estudia más adelante.

Los tejidos también pueden ser tripsinados, y la suspensión de células resultante puede ser: 1) inoculada sobre una monocapa de células de un cultivo de tejido existente, o 2) cocultivarse con otra suspensión de células conocidas libres del virus.

Si el material sometido a prueba contiene bacterias (exudado faríngeo, heces, orina, tejido infectado, o insectos), éstas deben inactivarse o retirarse antes de la inoculación.

1. Bactericidas:

- Antibióticos:** los antibióticos se emplean comúnmente en combinación con la centrifugación diferencial (véase después).
- Éter:** se puede añadir éter en concentraciones de 10 a 15% si no es dañino para el virus en cuestión (p. ej., enterovirus, vacuna).

2. Métodos mecánicos:

- Filtros:** las membranas filtro tipo miliporo de acetato de celulosa o un material inerte similar son las preferidas.
- Centrifugación diferencial:** éste es un método conveniente para eliminar muchas bacterias de preparaciones de virus pequeños fuertemente contaminadas. Las bacterias se sedimentan a velocidades bajas que no sedimentan los virus, y luego por centrifugación a velocidad alta se sedimentan los virus. El sedimento que contiene los virus se resuspende después en un pequeño volumen.

B. Cultivo en cultivo de células

Las técnicas para cultivo de células son las más ampliamente utilizadas para el aislamiento de los virus en las muestras clínicas. Cuando los virus se multiplican en cultivo de células producen efectos biológicos (p. ej., cambios citopáticos, interferencia viral, producción de una hemaglutinina) que permiten la identificación del agente.

Los cultivos en tubo de ensayo se preparan al añadir células suspendidas en 1 a 2 mL de líquido nutritivo que contiene solución balanceada de sales y varios factores de crecimiento (generalmente suero, glucosa, aminoácidos y vitaminas). Las células de naturaleza fibroblástica o epitelial se unen a la pared del tubo de ensayo y crecen allí, donde pueden examinarse con ayuda de un microscopio de poco aumento.

Con muchos virus el crecimiento del agente tiene lugar simultáneamente con la degeneración de estas células (figura 47-1). Algunos virus producen un efecto citopático característico comúnmente denominado CPE, en cultivo de células, el cual hace posible un diagnóstico de presunción rápido cuando se conoce el síndrome clínico. Por ejemplo, el virus sincitial respiratorio producen de manera característica células gigantes multinucleadas, en tanto que los adenovirus producen formaciones similares a racimos de uvas de células redondas grandes; los rinovirus producen áreas focales de formas redondeadas y dendríticas, y el virus del herpes simple produce células difusas uniformemente esféricas. Algunos virus (p. ej., virus de la rubéola) no pro-



Figura 47-1. A: Monocapa de células no teñidas de riñón de mono en cultivo (120 x). B: cultivo de células no teñidas de riñón de mono para mostrar la etapa inicial de los efectos citopáticos típicos de la infección por enterovirus (120 x). Aproximadamente 25% de las células del cultivo muestran efectos citopáticos indicadores de multiplicación viral (1+ de efecto citopático). C: cultivo de células no teñidas de riñón de mono para ilustrar el efecto citopático enteroviral más avanzado (3+ a 4+ de efecto citopático) (120 x). Casi 100% de las células están afectadas, y la mayor parte de la capa de células se ha desprendido de la pared del tubo de cultivo.

ducen cambios citopáticos directos, pero pueden detectarse por su interferencia con el efecto citopático de un segundo virus inductor (interferencia viral). El virus de la influenza y algunos paramixovirus pueden detectarse en 24 a 48 h si

se añaden eritrocitos a los cultivos infectados. Los virus que maduran en la membrana celular producen una hemaglutinina que permite al eritrocito adsorberse en la superficie de la célula (hemadsorción). La identidad de un aislado del virus se establece con un antisuero de tipo específico, que inhibe el desarrollo del virus o reacciona con antígenos virales.

En el cultivo se pueden desarrollar algunos virus, pero es un proceso muy lento y arduo. Se emplean pruebas alternativas en vez del cultivo para diagnosticar esta clase de infecciones (véase después).

C. Cultivo en frasco cápsula

Este método permite la detección rápida de virus en muestras clínicas. Se ha adaptado para varios virus, incluso citomegalovirus y virus de la varicela zoster. Por ejemplo, el CMV se puede detectar en 18 a 24 h en comparación con 2 a 4 semanas en el cultivo clásico de células: la sensibilidad de los cultivos en frasco cápsula y en cultivo clásico de células para el CMV son comparables. Monocapas de células para el CMV son comparables. Monocapas de la línea celular apropiada (p. ej., células MRC-5 para CMV) crecen en monocapas sobre cubreobjetos en frascos cápsula de 15 x 45 mm. Después de la inoculación con la muestra, los frascos se centrifugan a 700 x g durante 40 min a temperatura ambiente. Los frascos se incuban a 37 °C durante 16 a 24 h, se fijan, y reaccionan con un anticuerpo monoclonal específico para la proteína nuclear CMV presente muy al principio en el cultivo; varios de estos anticuerpos están disponibles en el comercio. Métodos de tinción directa o indirecta con anticuerpos y microscopía de fluorescencia se emplean para determinar la positividad del cultivo en el frasco cápsula. Los frascos control positivo y negativo se incluyen en cada prueba que se corre. Los aislados no se obtienen mediante la técnica del frasco cápsula. Si se requieren aislados para realizar pruebas de susceptibilidad a los antivirales se debe emplear la técnica clásica en cultivo de células.

Detección de antígeno

La detección de antígenos virales se usa de manera extensa en virología diagnóstica. Hay equipos comerciales para detectar muchos virus, incluyendo herpes simple I y II, influenza A y B, virus sincitial respiratorio, adenovirus, virus de parainfluenza, rotavirus y citomegalovirus. También se emplean varios tipos de pruebas: inmunoensayo enzimático, anticuerpo fluorescente directo, anticuerpo fluorescente indirecto, aglutinación de látex, etc. Las ventajas de estos procedimientos son que permiten la detección directa de virus que no crecen con facilidad en cultivos de células (p. ej., rotavirus, virus de la hepatitis A) o que se desarrollan de manera muy lenta (p. ej., citomegalovirus). En general, las pruebas de detección de antígeno para virus son menos sensibles que los métodos de cultivo viral y amplificación de ácido nucleico.

Amplificación y detección de ácido nucleico

Existe una amplia variedad de pruebas comerciales para detectar ácido nucleico viral o para amplificarlo y detectarlo. Estos procedimientos se están convirtiendo con rapidez

en los estándares para la virología diagnóstica, sustituyendo las técnicas tradicionales de cultivo de virus y detección de antígeno. Los métodos son PCR, PCR para transcriptasa reversa y otros métodos patentados. Los procedimientos permiten la detección de virus (p. ej., enterovirus y muchos otros), así como la cuantificación de los virus (p. ej., VIH-1, citomegalovirus, virus Epstein-Barr). Los datos de pruebas cuantitativas se emplean para guiar la terapia antiviral en enfermedades virales múltiples. Un buen ejemplo es el VIH/SIDA.

Hibridación de ácidos nucleicos

La hibridación de ácidos nucleicos para detectar virus es muy sensible y específica. La muestra se coloca sobre una membrana de nitrocelulosa y el ácido nucleico viral presente en la muestra se le une; a continuación se desnaturaliza con álcali *in situ*, se hibrida con un fragmento de ácido nucleico viral marcado, y se detectan los productos hibridados. Para los rotavirus, que contienen RNA de doble cadena, el método de hibridación en punto es incluso más sensible que el EIA. El RNA en las muestras fecales desnaturalizadas por calor que contienen rotavirus se inmoviliza según se describe antes, y se efectúa la hibridación *in situ* con sondas de cadena única marcadas, obtenidas por transcripción *in vitro* del rotavirus.

Medición de la respuesta inmune para la infección por virus

Típicamente, una infección por virus induce respuesta inmunitaria dirigida contra uno o más de los antígenos virales. Generalmente se desarrollan respuestas inmunitarias celular y humoral, y se puede emplear la medición de cualquiera de ellas para diagnosticar una infección viral. La inmunidad celular se puede evaluar por la hipersensibilidad dérmica, la transformación de los linfocitos y las pruebas de citotoxicidad. La respuesta inmunitaria humoral tiene mayor importancia diagnóstica. Los anticuerpos de tipo IgM aparecen inicialmente y van seguidos por los anticuerpos IgG. Los anticuerpos IgM desaparecen en algunas semanas, en tanto que los anticuerpos IgG persisten durante muchos años. El establecimiento del diagnóstico de una infección viral se logra serológicamente al demostrar un aumento en el título de los anticuerpos al virus o de los anticuerpos antivirales del tipo IgM (véase capítulo 8). Los métodos que se emplean son prueba de neutralización (Nt), prueba de fijación de complemento (FC), prueba de inhibición de hemaglutinación (HI) y prueba de inmunofluorescencia (IF). hemaglutinación pasiva e inmunodifusión.

La medición de los anticuerpos por diferentes métodos no necesariamente da resultados paralelos. Los anticuerpos detectados mediante la prueba FC se presentan durante una infección por enterovirus y en el periodo de convalecencia, pero no persisten. Los anticuerpos detectados por la prueba Nt también aparecen durante la infección y persisten por muchos años. La valoración de anticuerpos por varios métodos en individuos o grupos de individuos suministra información diagnóstica y también acerca de las características epidemiológicas de la enfermedad.

Cuando están disponibles, las pruebas de hipersensibilidad dérmica para medir respuestas inmunes celulares ofrecen ciertas ventajas en la determinación fácil y rápida antes de la exposición a agentes infecciosos. La prueba cutánea para parotiditis suele utilizarse (junto con la prueba cutánea para candida) como un control positivo cuando se aplican las pruebas cutáneas con tuberculina. La mayor parte de las personas han tenido parotiditis o han recibido la vacuna contra esta enfermedad, y aquellos con sistemas inmunológicos normales tienen pruebas cutáneas positivas. La prueba cutánea puede originar un incremento de anticuerpos, por ejemplo, en la prueba de fijación del complemento.

Inmunomicroscopia electrónica

Los virus no detectables por técnicas convencionales pueden observarse mediante inmunomicroscopia electrónica (IEM). Los complejos antígeno-anticuerpo o los agregados formados entre partículas virales en suspensión son causados por la presencia de anticuerpos en el antisero añadido y se detectan más fácilmente y con mayor precisión que las partículas virales individuales. Se emplea la IEM para detectar los virus que causan enteritis y diarrea: estos virus en general no pueden cultivarse con el cultivo estándar para virus. El rotavirus se detecta mediante ELA.

VIH

El virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) muestra una distribución mundial, en tanto que el VIH-2 se presenta principalmente en África Occidental y algunas otras áreas geográficas. La infección por VIH representa un caso especial en el diagnóstico virológico. El diagnóstico de laboratorio se puede establecer con precisión, con posibilidad escasa o nula de resultado falso positivo. Una vez establecido el diagnóstico, se emplean pruebas de laboratorio para seguir la evolución de la infección y ayudar a vigilar la eficacia del tratamiento. Los bancos de sangre emplean pruebas muy sensibles para detectar el VIH-1 en la sangre donada y así prevenir la infección por VIH-1 relacionada con la transfusión.

El entendimiento de las pruebas diagnósticas de VIH, y aquellas utilizadas para dar seguimiento a la infección, requiere conocimiento y comprensión de la estructura y replicación del VIH, así como la respuesta inmune a la infección. A continuación se presentará un resumen de estos aspectos. El VIH se trató con más detalle en el capítulo 44.

VIH-1 y VIH-2 son retrovirus. Poseen cubierta y cadena sencilla de RNA en sentido positivo. Sin embargo, con el uso de la enzima transcriptasa reversa pueden traducir el RNA en DNA el cual se integra dentro del genoma huésped. La proteína viral que se analiza con más frecuencia es la p24. Se pueden encontrar anticuerpos en el suero de los pacientes, dirigidos contra otros productos genéticos del VIH: productos *env*, glicoproteína (gp) 160 (gp160, gp41); p24, p17, p9, p7; *pol*, p66, p51, p32, p11.

De 2 a 6 semanas después de la infección, 50% o más de los pacientes desarrolla una infección parecida al sín-

drome de mononucleosis. En este momento ya existen altas concentraciones de VIH en la sangre, la cual puede detectarse por cultivo o por PCR transcriptasa reversa. Se pueden detectar anticuerpos contra VIH de 2 a 8 semanas después de la infección. Existe una respuesta de anticuerpos del tipo IgM contra los productos del gen *gag*, la cual gradualmente se desvía a la producción de anticuerpos del tipo IgG. Por lo general, las respuestas contra p24 y gp120 suceden al inicio, y son seguidas por respuestas contra gp41 y otras proteínas del virus. La viremia y la concentración de la proteína p24 en la sangre disminuyen con la respuesta con anticuerpos y pueden ser indetectables durante el periodo asintomático de la infección, mientras las concentraciones de anticuerpos dirigidos contra p24 permanecen altas. En los periodos tardíos de la enfermedad, las concentraciones de los anticuerpos contra p24 disminuyen, en tanto que aumenta el antígeno p24. Poco después de la infección, cuando se presentan los altos valores de viremia, la cuenta de linfocitos CD4 T disminuye. Tempranamente en la fase asintomática, regresa al estado normal, para disminuir con mayor rapidez en las fases finales del SIDA.

Las pruebas utilizadas para diagnosticar infección por VIH-1 están disponibles en el comercio; son productos bien estandarizados y muy elaborados. Se dispone de varios estuches ("kits") para realizar pruebas semejantes, que se mencionan posteriormente.

Análisis para detección de anticuerpos anti-VIH

A. Análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas (inmunoanálisis enzimático)

ELISA (o ELA, del inglés *enzyme immunoassay*) es la prueba de detección principal utilizada para el diagnóstico de infección por VIH-1. Generalmente, los antígenos de VIH-1 se inmovilizan en una superficie sólida, que suele ser una moldura convexa o caja de plástico, a la cual se adicionan el suero del paciente y los reactivos apropiados. Los anticuerpos contra VIH-1 adheridos a los antígenos inmovilizados de VIH-1 se detectan con una IgG antihumana marcada con enzima y una reacción colorimétrica. La cantidad de color resulta proporcionalmente más alta con concentraciones más altas de anticuerpos anti-VIH-1. El color por encima de un punto de expansión particular se considera una prueba positiva. La prueba ELISA para detección de VIH-1 resulta 99% sensible y 99% específica. Los niños nacidos de madres infectadas con VIH-1 por lo general tienen pruebas ELISA positivas para el virus, debido a la transferencia transplacentaria de los anticuerpos maternos; gradualmente la prueba será negativa si el niño no está realmente infectado con el VIH-1.

B. Western blot

La prueba *Western blot* se utiliza para cuantificar anticuerpos específicos contra VIH-1 y confirmar un resultado positivo de ELISA. En el *Western blot*, las proteínas de VIH-1 se separan de manera electroforética en una tira con nitrocelulosa. La tira se incuba con el suero del paciente. Los anticuerpos específicos para VIH-1 posteriormente se detectan utilizando una IgA antihumana ligada a enzimas. Una

reacción colorimétrica positiva genera bandas en el papel de nitrocelulosa correspondiente a la posición de los antígenos específicos de VIH-1. El criterio para determinar como positiva la prueba es la presencia de dos bandas correspondientes a p24, gp41 y gp120/160. La ausencia de las bandas es un resultado negativo, mientras que la presencia de las bandas que no llenan el criterio para una prueba positiva se considera un resultado no determinante. Los resultados falsos positivos y falsos negativos son relativamente infrecuentes. Los pacientes con resultados positivos de ELISA y resultados *Western blot* no determinantes requieren la repetición de las pruebas y la evaluación clínica. Un niño nacido de una madre infectada con VIH-1 puede tener un resultado positivo de *Western blot*, aunque éste gradualmente será negativo si el niño realmente no está infectado con VIH-1.

Análisis para detectar directamente infección por VIH

A. Detección del antígeno p24

La prueba ELISA se emplea para detectar el antígeno p24. Los anticuerpos anti-p24 se inmovilizan en una superficie sólida y se incuban con el suero del paciente. La cantidad de p24 se detecta utilizando una IgG anti-VIH-1 ligada a enzimas y una reacción colorimétrica. El antígeno p24 se puede detectar durante la etapa de viremia aguda de la infección y las etapas terminales de SIDA. Un porcentaje muy pequeño de personas asintomáticas portadoras de infección por VIH-1 resultan positivas para el antígeno p24.

B. Detección del RNA de VIH-1

Una gran variedad de pruebas se encuentran disponibles comercialmente para detectar y cuantificar el RNA-VIH-1; éstas incluyen los análisis PCR, BESAN y bDNA tanto para la detección como para la cuantificación de VIH-1. (Véase la sección acerca de diagnósticos moleculares al inicio de este capítulo.) Estos análisis se pueden emplear para identificar infección por VIH-1 antes del periodo que sigue a la infección cuando las pruebas de anticuerpos resultan positivas. Estas pruebas también se utilizan para dar seguimiento y evaluar la efectividad de la terapia anti-VIH-1.

C. Detección del DNA proviral de VIH-1

El DNA se extrae de células mononucleares obtenidas de sangre periférica anticoagulada. Posteriormente, en un análisis de PCR se utilizan iniciadores oligonucleótidos específicos de segmentos del DNA proviral integrado del VIH-1. (Véase la sección acerca de diagnóstico molecular al inicio de este capítulo.) Este tipo de análisis se puede utilizar para niños nacidos de madres infectadas con VIH-1 con el fin de determinar si el producto también está infectado.

D. Cultivo de VIH-1

El cultivo tisular fue la primera prueba desarrollada para diagnosticar infección por VIH-1; se utilizó para determinar que el VIH-1 es la causa del SIDA. El procedimiento consiste en la extracción de células mononucleares sanguíneas de un paciente potencialmente infectado; estas células se cocultivan con células mononucleares de sangre periférica de una persona no infectada que han sido previamente

estimuladas con fitohemaglutinina e interleucina 2. Los cultivos se mantienen en observación para detectar la formación de células gigantes multinucleadas, para la actividad de la transcriptasa reversa de VIH-1, o para identificar la producción del antígeno p24 de VIH-1. También se puede llevar a cabo un cultivo celular cuantitativo y un cultivo de plasma cuantitativo. El cultivo de VIH-1 posee una sensibilidad de 95 a 99%. El cultivo de VIH-1 requiere mucho tiempo y es muy costoso, por lo que su realización rutinaria no resulta efectiva en relación con su costo.

Vigilancia de las cuentas de células T CD4

Las cuentas absolutas de células T CD4 se utilizan ampliamente para vigilar el estado de pacientes con infección por VIH-1. Las cuentas generalmente se obtienen utilizando células de sangre entera teñidas con anticuerpos anti-CD4 marcados con una tinción fluorescente. Los eritrocitos sufren lisis, mientras que las células T CD4 se cuantifican por medio de citometría de flujo.

Pruebas pronósticas y seguimiento del tratamiento

Una carga viral alta, cuantificada con base en concentraciones altas de RNA de VIH-1, implica un mal pronóstico, de igual manera, una cuenta baja de células T CD4 indica riesgo de infección oportunista y, por ende, un pronóstico peor aún. Tanto la carga viral como el conteo de células T CD4 se utilizan para dar seguimiento y evaluar la efectividad de la terapia farmacológica contra VIH-1.

En las pruebas de genotipificación se usa la PCR para amplificar el RNA del VIH-1 que codifica para enzimas virales que son el objetivo de fármacos antirretrovirales. El análisis de secuencias amplificadas permite la determinación de mutaciones que codifican para resistencia a fármacos. Esta prueba de resistencia se recomienda en entornos de falla del primer régimen o régimen múltiple o en embarazo.

PREGUNTAS DE REVISIÓN

1. Una mujer de 47 años de edad fue sometida a un trasplante de médula como parte de su tratamiento contra la leucemia mieloide crónica. En el hospital se le colocó un catéter venoso central para administración de líquidos. En el tiempo posterior al trasplante, pero antes de que se estableciera, la paciente tuvo un recuento leucocitario bajo. La paciente tuvo fiebre, y se llevaron a cabo cultivos de sangre. ¿Cuál de los escenarios siguientes hace pensar que los cultivos de sangre positivos resultaron de un contaminante?
 - A. Dos cultivos positivos de sangre venosa periférica positivos con *Staphylococcus aureus*
 - B. Dos cultivos de sangre venosa periférica con *Staphylococcus epidermidis* junto con dos cultivos positivos de sangre de la línea central con *Staphylococcus epidermidis*. Los aislados de *Staphylococcus epidermidis* tuvieron el mismo patrón de susceptibilidad antimicrobiana

- C. Un cultivo positivo de sangre venosa periférica y un cultivo positivo de sangre de la línea central con *Escherichia coli*
- D. Un cultivo positivo de sangre de la línea venosa central con una especie de *Corynebacterium* y dos cultivos negativos de sangre venosa periférica
- E. Dos cultivos positivos de sangre de la línea central con *Candida albicans*
2. Hace dos días un varón de 22 años de edad volvió de un viaje de dos semanas a México. En 24 h presentó diarrea. De lo que se menciona a continuación, ¿qué no establece la causa de su diarrea?:
- A. Cultivo de heces para *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter*
- B. Cultivo de heces para rotavirus y virus parecido al Norwalk
- C. Inmunoanálisis enzimático de heces para antígeno de *Giardia lamblia*
- D. Cultivo de heces para *Campylobacter*
- E. Examen de heces para *Entamoeba histolytica*
3. Un varón de 37 años de edad viajó a Perú durante el tiempo de epidemia de cólera. Un día después de volver a casa manifestó diarrea acuosa intensa. Para mejorar el aislamiento de *Vibrio cholerae* de sus heces, el laboratorio necesita incluir:
- A. Agar de MacConkey
- B. Agar sangre para *Campylobacter*
- C. Agar tiosulfato, citrato, sales biliares y sacarosa
- D. Agar bismuto, sulfito
- E. Agar Hektoen
4. Un varón de 42 años de edad padece VIH/SIDA. ¿Cuál de los siguientes métodos es el más apropiado para seguir el avance de su tratamiento antirretroviral altamente activo?:
- A. Determinación de carga viral
- B. Seguir las concentraciones de anticuerpo para VIH-1
- C. Usar la prueba *Western blot* para evaluar sus niveles anti-P24
- D. Cultivo repetido de su sangre para VIH-1 con el fin de determinar cuándo se vuelve negativo el cultivo
- E. Genotipificación de su aislado de VIH-1 para determinar su susceptibilidad antirretroviral
5. Un niño de dos años de edad presenta diarrea. Se sospecha de infección por rotavirus. ¿Cuál de las siguientes acciones sería la más útil para diagnosticar una infección por rotavirus?:
- A. Tinción de anticuerpo fluorescente de la muestra de heces
- B. Microscopio de luz para detectar células mucosas con efecto citopático
- C. Cultivo de heces para excluir infección por *Salmonella*, *Shigella* y *Campylobacter*
- D. Detección de antígeno de virus en heces mediante análisis inmunoadsorbente ligado a enzimas
- E. Cultivo de virus
6. De lo que se menciona a continuación, ¿qué es apropiado para determinar el diagnóstico etiológico de infección?
- A. Cultivo e identificación del agente
- B. Hibridación DNA-DNA o DNA-RNA para detectar genes específicos de patógenos en muestras de pacientes
- C. Demostración de una respuesta significativa a anticuerpo o inmunológica mediada por células para un agente infeccioso
- D. Identificación morfológica del agente en tinciones de muestras o secciones de tejidos mediante microscopio de luz o electrónico
- E. Detección de antígeno a partir del agente por análisis inmunológico
- F. Todo lo anterior
7. Una mujer de 45 años de edad es admitida al hospital debido a que presenta fiebre, una pérdida de peso de 6 kg y un nuevo soplo en el corazón. Se diagnostica endocarditis probable. ¿Cuántos cultivos de sangre y durante qué tiempo se deben hacer para proveer evidencia de infección bacteriana específica en endocarditis?:
- A. Uno
- B. Dos durante 10 min
- C. Tres durante 2 h
- D. Tres durante 24 h
- E. Seis durante tres días
8. Un niño de cuatro años de edad manifiesta diarrea sanguinolenta. Se sospecha de colitis hemorrágica debida a *Escherichia coli* O157:H7. ¿Qué medio se debe inocular para ayudar al personal del laboratorio a establecer el diagnóstico de esta infección?:
- A. Agar sangre
- B. Agar sorbitol MacConkey
- C. Agar entérico Hektoen
- D. Agar CIN (celsulogina, irgasan, novobiocina)
- E. Agar tiosulfato, citrato, sales biliares, sacarosa
9. Un hombre afroamericano de 43 años de edad maneja de manera frecuente su tráiler de 18 ruedas por el valle central de California. Hace dos meses hubo un vendaval mientras conducía por el valle. Dos semanas después de ese incidente tuvo fiebre con tos y dolor torácico pleurítico. En la radiografía de tórax se observó un infiltrado. Se diagnosticó neumonía, y se suministró al paciente eritromicina. La fiebre, la tos, el dolor pleurítico y el infiltrado desaparecieron durante tres semanas. Hace dos semanas, el paciente manifestó cefaleas cada vez más intensas y durante los dos días anteriores tuvo vómito. Su líquido cefalorraquídeo contiene 150 leucocitos/ μ L, linfocitos de manera predominante y la concentración de glucosa es baja. Se sospecha de meningitis debida a *Coccidioides immitis*. ¿Cuál de las pruebas siguientes es la más sensible y útil para confirmar este diagnóstico?:
- A. Prueba cutánea con antígenos coccidioidales
- B. Prueba de fijación del complemento de líquido cefalorraquídeo para anticuerpos contra *Coccidioides immitis*
- C. Prueba de inmunodifusión de líquido cefalorraquídeo para anticuerpos contra *Coccidioides immitis*
- D. Cultivo de líquido cefalorraquídeo para *Coccidioides immitis*
- E. Prueba de fijación del complemento de suero para anticuerpos contra *Coccidioides immitis*
10. Un paciente de cinco años de edad con trasplante de riñón que es tratado con ciclosporina manifiesta un trastorno linfoproliferativo. ¿Cuál de los virus siguientes es el causante de este trastorno?:
- A. Citomegalovirus
- B. Virus de herpes simple
- C. Coxsackievirus virus B
- D. Virus de la hepatitis B
- E. Virus Epstein-Barr

Respuestas: 1 = D; 2 = B; 3 = C; 4 = A; 5 = E; 6 = F; 7 = D; 8 = B; 9 = A; 10 = E

REFERENCIAS

Murray PR et al. (editors): *Manual of Clinical Microbiology*.
8th ed. ASM Press, 2003.

El m
der:
cim
pres
les y
tivos
caus
exis
trave
dici
con
el m
caso
caus

obra
mo a
el ca
bas
de te
tar c
Uno
Tien
actu

CA

Una
cias
apeti
desp
ca no
come
a un
de va
res a
cuad

Correlación y casos clínicos

El manejo de las enfermedades infecciosas requiere entender sus manifestaciones clínicas de presentación y el conocimiento de la microbiología. Muchas infecciones se presentan bajo una constelación de signos y síntomas locales y sistémicos que, en casos típicos, son altamente sugestivos del diagnóstico, aun cuando la enfermedad puede ser causada por cualquiera de los muchos microorganismos existentes. Establecer un diagnóstico clínico confirmado a través de estudios de laboratorio es parte del arte de la medicina. En este capítulo se presentan 19 casos, cada uno con una discusión breve sobre el diagnóstico diferencial y el manejo de tales infecciones. También se presentan dos casos adicionales y dos brotes de enfermedades naturales causadas por agentes relacionados con la guerra biológica.

El lector se deberá remitir a capítulos previos de esta obra si desea conocer más detalles sobre el microorganismo abordado en el caso clínico; también deberá consultar el capítulo 47 para obtener información acerca de las pruebas diagnósticas en microbiología, así como a otros libros de texto de medicina y enfermedades infecciosas para contar con información más relativa a las entidades clínicas. Uno de esos libros es *Diagnóstico clínico y Tratamiento* de Tierney LM Jr, McPhee SF y Papadakis MA, el cual es actualizado anualmente.

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

CASO 1: MENINGITIS

Una niña de tres años de edad ingresó al servicio de urgencias llevada por sus padres a causa de fiebre y pérdida del apetito durante las últimas 24 h, así como dificultad para despertarla durante las últimas dos horas. La historia clínica no reveló antecedentes patológicos de su desarrollo psicomotor desde el nacimiento hasta la fecha. La niña asistía a una guardería durante las mañanas y tenía antecedentes de varios episodios de presuntas infecciones virales similares a aquellas padecidas por otros niños de la guardería. Su cuadro de inmunizaciones estaba actualizado.

Datos clínicos

La temperatura registrada al ingreso fue de 39.5 °C, frecuencia cardíaca de 130/min, frecuencia respiratoria de 24/min y tensión arterial de 110/60 mm Hg.

Durante la exploración física se identificó a la paciente con estado nutricional y desarrollo adecuados, talla y peso normales, pero somnolienta. Al momento de flexionar pasivamente su cuello, las piernas también se flexionaron (signo de Brudzinski positivo que sugiere irritación meníngea). El examen oftalmológico reveló la ausencia de papiledema, lo cual indicaba que se había presentado incremento prolongado de la presión intracraneal. El resto de la exploración física fue normal.

Datos de laboratorio

Minutos después, se extrajeron muestras de sangre para hemocultivo y otras pruebas de laboratorio, y se le colocó una venoclisis. La punción lumbar se realizó antes de 30 min a partir del ingreso de la paciente al servicio de urgencias; la presión de líquido cefalorraquídeo (LCR) —presión elevada— fue de 350 mm Hg; el LCR tenía un aspecto turbio. Se colectaron varios tubos con LCR para cultivo y estudio citológico. Un tubo se llevó inmediatamente al laboratorio para realizar la tinción de Gram, que reveló la presencia de abundantes células polimorfonucleares (PMN) y diplococos gramnegativos sugestivos de *Neisseria meningitidis*.

La prueba de química sanguínea fue normal, al igual que el hematocrito. La cuenta de leucocitos fue de 25 000/ μ L (muy elevada), y la diferencial fue la siguiente: 88% de células PMN y una cuenta absoluta de PMN de 22 000/ μ L (muy elevada), 6% de linfocitos y 6% de monocitos. El citológico del LCR reveló 5 000 PMN/ μ L (valor normal 0 a 5 linfocitos/ μ L) y glucosa de 15 mg/dL (baja, denominada hipoglucoorraquia) todos estos datos fueron compatibles con una meningitis bacteriana. Los cultivos de sangre y LCR demostraron el crecimiento de *N. meningitidis* serogrupo B.

Tratamiento

La terapia con cefotaxima vía intravenosa se inició a los 35 a 40 min del ingreso de la paciente; también se le administró

dexametasona; la paciente fue sometida a un esquema de tratamiento de 14 días y se recuperó sin ninguna secuela evidente. Se planearon exámenes neurológicos subsecuentes y pruebas de audición. A los otros niños que asistían a la misma guardería se les administró rifampicina como profilaxis.

Comentario

La meningitis bacteriana generalmente se presenta con fiebre, cefalea, vómito, fotofobia, estado mental alterado que varía desde la somnolencia hasta el coma, signos neurológicos que varían desde anomalías del funcionamiento de nervios craneales hasta crisis convulsivas. Sin embargo, la presencia única de signos sutiles como fiebre y letargia suelen corresponder a meningitis. La meningitis se considera aguda cuando los signos y síntomas tienen una duración menor de 24 h y subaguda cuando se presentan durante uno a siete días. La punción lumbar y el examen citoquímico con cultivo del LCR se indican siempre que existe sospecha de meningitis.

La meningitis aguda a menudo es causada por bacterias de unas cuantas especies (cuadro 48-1): *Streptococcus* serogrupo B de Lancefield (*Streptococcus agalactiae*) y *Escherichia coli* en neonatos; *Haemophilus influenzae* en niños entre los cuatro a seis meses y seis años de edad; *N. meningitidis* en niños escolares y adultos jóvenes; y *Streptococcus pneumoniae* ocasionalmente en escolares, aumentando su incidencia en adultos y adultos mayores. Muchas otras especies de microorganismos causan meningitis de manera menos común. *Listeria monocytogenes* causa me-

ningitis en pacientes inmunodeficientes y personas normales; la levadura *Cryptococcus neoformans* es la causa más común de meningitis en pacientes con SIDA y puede también producir meningitis en otros pacientes inmunodeficientes, así como en personas con estado inmunológico normal. La meningitis debida a listeria o *cryptococo* puede ser aguda o tener un inicio insidioso. Algunos bacilos gramnegativos causan meningitis después de un trauma craneoencefálico agudo y en pacientes sometidos a neurocirugía. *S. pneumoniae* se observa en meningitis recurrentes de pacientes con fracturas de la base del cráneo; *Mycobacterium tuberculosis* puede mostrar un inicio lento (crónico; de más de siete días) en personas inmunológicamente normales, pero progresa de manera más rápida (evolución subaguda) en personas inmunosuprimidas como son los pacientes con SIDA. Las especies *Naegleria* y las amibas de vida libre pocas veces causan meningitis sobre todo en personas con antecedentes recientes de nadar en agua tibia al aire libre. Los virus suelen producir una meningitis de intensidad más leve que las bacterias; los que más comúnmente causan meningitis son los enterovirus (echovirus y coxsackievirus) y el virus de la parotiditis.

El diagnóstico de meningitis requiere una alto grado de sospecha al identificar los signos y síntomas apropiados más la realización de la punción lumbar inmediata seguida por el examen del LCR. Los datos del líquido espinal típicamente incluyen leucocitos presentes en cientos hasta miles por mililitro (PMN en caso de meningitis aguda bacteriana y linfocitos en caso de meningitis viral o tuberculosa); glucosa de < 40 mg/dL, o menos de 50% de la concentración sérica de glucosa; y proteínas de > 100 mg/dL (cuadro 48-2). En la meningitis bacteriana, la tinción de

Cuadro 48-1. Causas comunes del meningitis

Microorganismo	Grupo de edad	Comentarios	Capítulo
Estreptococos del serogrupo B (<i>Streptococcus agalactiae</i>)	Neonatos hasta los tres meses	Hasta 25% de las madres es portador de estreptococos del serogrupo B en la vagina. La profilaxis con ampicilina durante el trabajo de parto de las mujeres con alto riesgo (rotura prematura de membranas, fiebre, etc.) o de las portadoras conocidas, disminuye la incidencia de infección en los lactantes	15
<i>Escherichia coli</i>	Neonatos	Es común que presenten el antígeno K1	16
<i>Haemophilus influenzae</i>	Niños de 6 meses a 5 años	El uso masivo de la vacuna disminuye en gran medida la incidencia de la meningitis por <i>H. influenzae</i> en los niños	19
<i>Neisseria meningitidis</i>	Lactantes hasta niños de cinco años de edad y adultos jóvenes	En las regiones epidémicas se utilizan las vacunas de polisacáridos contra los serogrupos A, C, Y y W135 así como en los brotes	21
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Todos los grupos de edad mayor incidencia en los adultos mayores	Con frecuencia se presenta con neumonía, también con mastoiditis, sinusitis y fracturas de la base del cráneo	15
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Pacientes con SIDA	Causa frecuente de meningitis en los pacientes con SIDA	45

Cuadro 48-2. Hallazgos típicos en el líquido cefalorraquídeo en diversas enfermedades del sistema nervioso central

Diagnóstico	Células (por μ L)	Glucosa (mg/dL)	Proteínas (mg/dL)	Presión de apertura
Normal ¹	0 a 5 linfocitos	45 a 85	15 a 45	70 a 180 mm H ₂ O
Meningitis purulenta (bacteriana)	200 a 20 000 PMN	Disminución (< 45)	Aumento (> 50)	++++
Meningitis granulomatosa (micobacterias, hongos) ^{2,3}	100 a 1 000, sobre todo linfocitos	Disminución (< 45)	Aumento (> 50)	+++
Meningitis aséptica, viral o meningoencefalitis ^{3,4}	100 a 1 000, sobre todo linfocitos	Normal	Aumento moderado (> 50)	Normal o +
Meningitis espiroquetósica (sífilis, leptospirosis) ³	25 a 2 000, sobre todo linfocitos	Normal o disminución	Aumento (> 50)	+
Reacción por "vecindad" ⁵	Incremento variables	Normal	Normal o aumento	Variable

¹ La concentración de la glucosa del LCR debe considerarse respecto a la concentración de la glucosa sanguínea. Normalmente el valor de la glucosa del LCR está 20 a 30 mg/dL por debajo del valor de la glucosa sanguínea, o 50 a 70% de los valores normales de la glucosa sanguínea.

² Microorganismos en el frotis o en el cultivo del LCR.

³ En la fase temprana es posible un predominio de los PMN.

⁴ Los virus se pueden aislar del líquido cefalorraquídeo en las etapas tempranas; los títulos de los anticuerpos aumentan en las muestras de suero pareadas.

⁵ Es posible que se presente en la mastoiditis, los abscesos cerebrales, los abscesos epidurales, la sinusitis, los trombos sépticos, tumor cerebral, por lo general el cultivo de LCR resulta negativo.

Gram del sedimento centrifugado del LCR muestra la presencia de PMN y la morfología bacteriana que corresponde perfectamente con las especies cultivadas posteriormente: *N. meningitidis*, un diplococo intracelular gramnegativo; *H. influenzae*, un coccobacilo pequeño gramnegativo; estreptococos serogrupo B y neumococos, bajo la morfología de cocos grampositivos en pares y en cadenas. Los hemocultivos se deben llevar a cabo al mismo tiempo que los cultivos de LCR.

La meningitis bacteriana aguda resulta fatal si no se trata; el tratamiento inicial debe incluir antibióticos parenterales con previo conocimiento de su efectividad en contra de los microorganismos sospechados: penicilina G o ampicilina se emplea para estreptococos del serogrupo B, neumococos y meningococos; cefalosporinas de tercera generación se utilizan para *H. influenzae* y *E. coli*. Al momento de seleccionar el tratamiento antimicrobiano inicial es importante tomar en cuenta que cada vez son más frecuentes los neumococos resistentes a penicilina G, así también que los meningococos son relativamente resistentes a esta penicilina; por tanto, es apropiada la terapia inicial con fármacos distintos a la penicilina G tradicional, a menos que se confirme la susceptibilidad de la bacteria a dicho fármaco. El tratamiento inicial con ampicilina contra *H. influenzae* no se recomienda debido a que una proporción muy significativa de estas bacterias producen β -lactamasa.

Quagliarello VJ, Scheld WM: Treatment of bacterial meningitis. *N Engl J Med* 1997;336:708.

Schuchart A et al.: Bacterial meningitis in the United States in 1995. *N Engl J Med* 1997;337:970.

Tunkel AR, Scheld WM: Corticosteroids for everyone with meningitis? *N Engl J Med* 2002;347:1613.

CASO 2: ABSCESO CEREBRAL

Un hombre de 57 años de edad se presentó en el hospital con una crisis convulsiva. Tres semanas previas al ingreso había presentado cefaleas frontales que remitían con aspirinas. Las cefaleas se presentaron de manera recurrente incluso el día anterior a su admisión. En la mañana del ingreso, el paciente había sufrido de crisis convulsivas focales al presentar movimientos involuntarios del lado derecho de cara y brazo. Durante su estancia en el servicio de urgencias, el paciente presentó una crisis convulsiva generalizada que se controló con diazepam, fenitoína y fenobarbital vía intravenosa. La información proporcionada por la esposa reveló que el paciente se había sometido a una extracción dental y colocación de un puente aproximadamente cinco semanas antes. El paciente no tenía antecedentes de tabaquismo, era bebedor social y no recibía tratamiento farmacológico. El resto de la historia clínica no arrojó más datos de utilidad.

Datos clínicos

La temperatura al ingreso fue de 37 °C, frecuencia cardíaca de 110/min, frecuencia respiratoria de 18/min y tensión arterial de 140/80 mm Hg.

A la exploración física el paciente se encontró somnoliento y con disminución de su capacidad de atención. El paciente podía mover todas las extremidades, aunque el brazo derecho lo movía menos que el izquierdo. Se identificó un ligero borraramiento del disco óptico izquierdo, sugestivo de posible incremento de la presión intracraneal. El resto de la exploración física resultó normal.

Datos de laboratorio e imagenología

Las pruebas de laboratorio resultaron normales, incluyendo hemoglobina, hematocrito, cuenta leucocitaria con diferencia, electrolitos séricos, nitrógeno ureico sanguíneo, creatinina sérica, examen general de orina, radiografía de tórax y ECG. La punción lumbar no se llevó a cabo ni se examinó el líquido cefalorraquídeo, debido al posible aumento de la presión intracraneal secundaria a una lesión ocupativa. Los hemocultivos resultaron negativos. El análisis con tomografía computarizada de la cabeza del paciente identificó una lesión localizada de aspecto anular y 1.5 cm de diámetro en el hemisferio parietal izquierdo, sugestiva de absceso cerebral.

Tratamiento

El paciente se sometió a un procedimiento de neurocirugía con toma de biopsia de la lesión, la cual se extrajo por completo. El cultivo del material necrótico de la lesión reveló la presencia de *Prevotella melaninogenica* y *Streptococcus anginosus*. El examen patológico del tejido sugirió que la lesión tenía varias semanas de evolución. El paciente recibió terapia antimicrobiana durante cuatro semanas; no volvió a presentar convulsiones ni mostró déficit neurológico subsecuente. Un año después, se discontinuaron los medicamentos anticonvulsivos y la TC de seguimiento resultó negativa.

Comentario

Un absceso cerebral es una infección bacteriana piógena localizada dentro del parénquima cerebral. Las manifestaciones clínicas principales se relacionan con la presencia de una lesión ocupativa (masa) en el cerebro más que con signos y síntomas clásicos de infección. Como consecuencia, los pacientes comúnmente presentan cefalea y modificación de su estado mental desde la normalidad hasta la letargia o el coma. Los datos neurológicos focales relacionados con la localización del absceso se presentan en menos de la mitad de los pacientes; una tercera parte de éstos presenta fiebre. Muy pocas ocasiones, los pacientes muestran signos y síntomas sugestivos de meningitis aguda. Inicialmente, el clínico debe diferenciar entre un absceso cerebral y otros procesos del sistema nervioso central como cánceres primarios o metastásicos, abscesos subdurales o epidurales, infecciones virales (encefalitis por herpes simple), meningitis, accidente vascular cerebral y muchas otras enfermedades.

Los factores predisponentes más relevantes para desarrollar un absceso cerebral son infecciones de sitios distantes con bacteriemia como endocarditis, infecciones pulmonares u otras infecciones ocultas. Muchos pacientes refieren el antecedente de un trabajo dental reciente. El absceso cerebral también puede generarse debido a la diseminación de una infección de sitios contiguos como el oído medio, apofisis mastoides o senos paranasales; o después de un trauma penetrante. No obstante, 20% de los pacientes con absceso cerebral no poseen factores predisponentes identificables.

Un absceso cerebral puede ser producido por una sola especie de bacteria, aunque es mucho más común el aislamiento de más de una especie (el promedio general son dos especies diferentes). De las bacterias facultativas y aerobias, los estreptococos *viridans* (incluyendo las cepas no hemolíticas y α y β hemolíticas, el grupo *S. anginosus*, *S. mitis*, etc; véase el capítulo 15) son las especies más comunes, puesto que se aíslan en una tercera parte hasta la mitad de todos los pacientes con absceso cerebral. *Staphylococcus aureus* (capítulo 14) se aísla en 10 a 15% de los casos y suele ser el único germen identificado. Los bacilos gramnegativos se presentan en 25% de los casos, a menudo en cultivos mixtos. Muchas otras bacterias facultativas o aerobias (p. ej., *S. pneumoniae*, *Nocardia asteroides*) también se detectan en abscesos cerebrales; bacterias anaerobias se identifican en 50% o más de los casos (capítulo 22), de las cuales la más común es el peptostreptococo, seguido en frecuencia por bacteroides y *Prevotella*. *Fusobacterium*, *Actinomyces* y *Eubacterium* son menos comunes, seguidos por otros anaerobios. Muchos hongos y parásitos pueden producir abscesos cerebrales o infección del sistema nervioso central. En los pacientes inmunodeficientes, particularmente los pacientes con SIDA, la lista de causas principales de absceso cerebral se extiende e incluye a *Toxoplasma gondii*, *Cryptococcus neoformans*, *Mycobacterium tuberculosis* y micobacterias atípicas.

La punción lumbar para obtener LCR generalmente no se indica en pacientes con absceso cerebral (u otras lesiones ocupativas en cerebro). La elevación de la presión intracraneal hace de la punción lumbar un procedimiento altamente peligroso para la vida del paciente, debido a la posibilidad de herniación del cerebro a través del *tentorium cerebelli* que puede resultar en la compresión del mesencéfalo (y paro cardiorrespiratorio como consecuencia). Los datos en el LCR son inespecíficos de absceso cerebral: suelen estar presentes leucocitos, predominantemente células mononucleares; los valores de glucosa puede encontrarse moderadamente bajos y la concentración de proteínas elevada. Así, cuando hay ausencia de fiebre y signos sugestivos de meningitis aguda y existe la sospecha de absceso cerebral, el clínico debe solicitar un estudio de TC. Los abscesos cerebrales típicamente muestran captación del material de contraste con forma de anillo en el estudio con TC, aunque datos similares se pueden observar en pacientes con tumores cerebrales y otras enfermedades. La imagen por resonancia magnética (IRM) puede ser de utilidad para diferenciar entre un absceso cerebral y un tumor. Los estudios con isótopos como tecnecio 99 o indio 111 también se llegan a utilizar con este propósito. La diferenciación definitiva entre abscesos cerebrales y tumores se logra mediante el estudio patológico y cultivo del tejido obtenido de la lesión durante la neurocirugía.

Los abscesos cerebrales que se dejan sin tratar son fatales. La escisión quirúrgica tiene una doble finalidad, es la terapia inicial y también establece el diagnóstico de absceso cerebral. La aspiración con aguja utilizando estereotaxia es una alternativa a la escisión quirúrgica. La terapia antibiótica se debe administrar vía parenteral e incluye dosis altas de penicilina G para atacar estreptococos y muchos anaerobios, metronidazol para anaerobios resistentes a penicilina G, más una cefalosporina de tercera generación para

los bacilos entéricos gramnegativos. La vancomicina u otro fármaco específico para *S. aureus* se debe incluir en el tratamiento inicial si el paciente presenta endocarditis, si se conoce la presencia de bacteriemia estafilocócica o si el cultivo del tejido del absceso revela la presencia de estafilococos. La terapia inicial con antibióticos en lugar de la cirugía se puede instituir en algunos pacientes cuyos abscesos cerebrales son pequeños (menores de 2 cm), múltiples o difíciles de abordar quirúrgicamente, aunque el deterioro de las funciones neurológicas indican la necesidad de la intervención quirúrgica. Una vez conocidos los resultados del cultivo del material del absceso, se debe modificar la terapia inicial antibiótica de manera que sea específica para las bacterias de la lesión. El tratamiento antimicrobiano se debe continuar durante al menos tres a cuatro semanas después de la escisión quirúrgica o durante ocho semanas o más si no se realizó tal cirugía. Las causas no bacterianas de absceso cerebral generalmente requieren diagnósticos definitivos y terapia específica. Los esteroides, utilizados con el fin de disminuir el edema únicamente se indican cuando existe efecto de masa.

TÓRAX

CASO 3: NEUMONÍA BACTERIANA

Un hombre de 35 años de edad llegó al servicio de urgencias a causa de fiebre y dolor en el hemitórax izquierdo al momento de toser. Cinco días antes había iniciado un cuadro con signos de infección respiratoria superior de origen viral con irritación faríngea, rinorrea y aumento de la tos. Un día antes de presentarse al hospital, el paciente comenzó con dolor torácico izquierdo al momento de toser o al respirar profundamente; 12 h antes de su ingreso se despertó con escalofríos intensos y diaforésis. El interrogatorio más detallado reveló que el paciente solía beber cantidades de moderadas a muy abundantes de alcohol y fumaba una cajetilla de cigarrillos diariamente desde hacía 17 años aproximadamente. El paciente trabajaba como mecánico automotriz; tenía antecedentes de dos hospitalizaciones previas. Cuatro años antes debido a un síndrome de abstinencia alcohólica y dos años atrás debido a bronquitis aguda.

Datos clínicos

Al momento de ingresar la temperatura registrada fue 39 °C, frecuencia cardíaca de 130/min, frecuencia respiratoria de 28/min y tensión arterial de 120/80 mm Hg.

Durante la exploración física se encontró a un individuo con un sobrepeso ligero, con tos constante y que oprimía su tórax izquierdo con cada acceso de tos. La tos era productiva, con un esputo no muy viscoso de color amarillillo rojizo (herrumbroso). La exploración del tórax mostró un diafragma con movimientos normales; a la percusión se encontró matidez del campo pulmonar izquierdo en su re-

gión lateral posterior, dato sugestivo de un síndrome de consolidación pulmonar. Los ruidos respiratorios (bronquiales) se auscultaron en la misma región de la matidez junto con estertores crepitantes secos, compatibles con una consolidación pulmonar y presencia de moco viscoso en la vía aérea. El resto de la exploración física fue normal.

Datos de laboratorio e imagenología

Las placas radiológicas del tórax revelaron una consolidación densa del lóbulo basal izquierdo correspondiente a una neumonía bacteriana. El hematócrito fue de 45% (normal); la cuenta leucocitaria fue de 16 000/μL (marcadamente elevada) con 80% de células PMN y una cuenta total de PMN de 12 800/μL (marcadamente elevada), 12% de linfocitos y 8% de monocitos. La química sanguínea, incluyendo electrolitos séricos, resultó normal. El esputo era espeso, de color amarillento a rojizo, de aspecto purulento. La tinción de Gram del esputo reveló la presencia de muchas células PMN y diplococos grampositivos con forma de lanceta; 24 horas después, los hemocultivos resultaron positivos para *Streptococcus pneumoniae* y los cultivos del esputo mostraron abundante crecimiento de *S. pneumoniae* y algunas cuantas colonias de *H. influenzae*.

Tratamiento

El diagnóstico inicial fue neumonía bacteriana, probablemente neumocócica; por tanto, se inició tratamiento antibiótico con penicilina G acuosa vía parenteral y la administración de líquidos intravenosos. A las 48 horas, la temperatura del paciente se normalizó y el paciente comenzó a toser arrojando grandes cantidades de esputo purulento. El régimen con penicilina G se continuó durante siete días. Al realizar el seguimiento del paciente, a las cuatro semanas desde su ingreso al hospital, se observó la remisión total de la consolidación pulmonar.

CASO 4: NEUMONÍA VIRAL

Un hombre de 31 años de edad se presentó al hospital refiriendo exantema, tos y respiración entrecortada. Cuatro días antes había comenzado a sentirse enfermo y con fiebre de 38 °C; al día siguiente presentó un exantema cutáneo que en un inicio aparecieron como "burbujas", pero pronto se convirtieron en vesículas. Posteriormente aparecieron muchos más brotes de lesiones cutáneas pruriginosas. Dos horas antes de su admisión, el paciente experimentó por primera vez dolor torácico de lado derecho al toser o al respirar profundamente.

Dos semanas antes de su ingreso su hija de ocho años de edad había padecido varicela y él la había cuidado durante su convalecencia. El paciente no sabía si durante su infancia padeció varicela.

Datos clínicos

Al ingreso, la temperatura fue de 39 °C, frecuencia cardíaca de 110/min, frecuencia respiratoria de 30/min y tensión ar-

terial de 115/70 mm Hg. El paciente parecía muy agitado e incómodo; presentó un rash cutáneo que consistía en múltiples brotes o estadios de lesiones variando desde máculopápulas rojas hasta vesículas que se rompían y aplastaban. Los labios y se apreciaban ligeramente cianóticos. Se auscultaron estertores bilaterales en ambos campos pulmonares. El resto de la exploración física fue normal.

Datos de laboratorio e imagenología

Las radiografías de tórax evidenciaron un infiltrado pulmonar intersticial bilateral difuso. La gasometría arterial reveló una PO_2 de 60 mm Hg con 91% de saturación de hemoglobina. El hematócrito, la fórmula blanca, los electrolitos séricos y las pruebas de función hepática resultaron normales.

Tratamiento y evolución intrahospitalaria

El paciente se hospitalizó y se sometió a oxígeno terapia, la cual mejoró la condición de hipoxia. También se le administró aciclovir vía intravenosa a dosis altas. Durante los días siguientes su estado respiratorio mejoró y al sexto día se discontinuó la oxigenoterapia. El aciclovir se modificó a vía oral al tercer día de hospitalización y se continuó durante un total de 10 días. El paciente se dio de alta a su domicilio el séptimo día.

Comentario

La neumonía bacteriana aguda comúnmente se presenta con un inicio abrupto caracterizado por la presencia de temblores y fiebre, tos y, muy a menudo, dolor torácico pleurítico. La tos suele ser productiva con esputo purulento, aunque muchos pacientes con neumonía no se encuentran hidratados de manera adecuada y por tanto no producen esputo hasta que reciben líquidos, como sucedió en este caso de neumonía bacteriana. El dolor torácico pleurítico se origina cuando el proceso inflamatorio de la neumonía involucra al límite pleural entre el pulmón y la cavidad torácica; el movimiento de la pleura, como sucede durante los eventos de tos o respiración profunda, genera dolor localizado. Los pacientes con neumonía aguda tienen un aspecto evidente de enfermedad y generalmente presentan taquipnea (respiración rápida) y taquicardia (frecuencia cardíaca rápida). Muchos pacientes con neumonía poseen factores predisponentes (insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, etc.) que se exacerban justo antes o junto con la neumonía.

Los datos de la exploración física son aquellos relacionados con la consolidación del tejido pulmonar, moco purulento (esputo) en la vía aérea y, en algunos pacientes, líquido en la cavidad torácica. A la percusión, existe matidez en el área de la consolidación (o con líquido). Cuando se presenta la consolidación, las vías aéreas pequeñas se cierran y sólo quedan permeables las vías aéreas de mayor calibre; a la auscultación, se aprecian sonidos respiratorios tubulares en el área afectada. Si todas las vías aéreas se bloquean, no se ausculta ningún tipo de sonido respirato-

rio. Los sonidos crepitantes secos (estertores) o sonidos de fricción detectados durante la auscultación indican la presencia de líquido o moco en las vías aéreas; estos sonidos pueden modificarse cuando el paciente tose.

La neumonía viral se caracteriza por una inflamación intersticial del tejido pulmonar y formación de membrana hialina en los espacios alveolares, a menudo acompañadas de bronquiolitis y necrosis de las células ciliadas de las vías respiratorias pequeñas con inflamación peribronquial. Los virus que comúnmente causan neumonía son el virus sincicial respiratorio, los virus parainfluenza (principalmente el tipo 3), los virus influenza, adenovirus, virus del sarampión y virus de la varicela zóster. El citomegalovirus causa neumonía en pacientes sometidos a trasplante de órganos sólidos o de médula ósea alogénica; el virus de la varicela zoster puede producir neumonía en estos pacientes también. Muchos otros agentes infecciosos, así como agentes no infecciosos, pueden provocar neumonitis intersticial con o sin consolidación focal del pulmón; algunos ejemplos son *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Pneumocystis jirovecii*. Los datos físicos durante el examen del tórax en la neumonía viral suelen ser muy escasos; a menudo sólo se detectan estertores durante la auscultación. Algunos virus ocasionan rash cutáneo característico que puede servir como pista para establecer el diagnóstico. Las radiografías de tórax revelan infiltrados intersticiales bilaterales difusos; puede haber áreas de consolidación focal. Los cuidados de soporte como la oxigenoterapia y la quimioterapia antiviral específica, siempre que sea posible, son medidas importantes y a veces indispensables.

Las causas más comunes de neumonía adquirida en la comunidad son *S. pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* (neumonía atípica en personas jóvenes) y *L. pneumophila* (cuadro 48-3); de manera colectiva, estos patógenos pueden ser la causa hasta en 75% de los casos de neumonía adquirida en la comunidad. La neumonía causada por *H. influenzae* es común en sujetos con antecedente de enfermedad cardiopulmonar crónica. Otras causas incluyen *Chlamydia pneumoniae* (representa hasta 10% de las neumonías adquiridas en la comunidad), *Staphylococcus aureus* relacionado con infecciones causadas por el virus influenza, y *Klebsiella pneumoniae* en los individuos con alcoholismo crónico. Otros bacilos gramnegativos son causas no comunes de neumonía adquirida en la comunidad. Las infecciones pulmonares pleurales mixtas causadas por bacterias anaerobias diversas se relacionan con factores predisponentes como enfermedad periodontal, trastornos convulsivos, estupor o coma, y aspiración de bacterias orofaríngeas hacia el pulmón. Neumonía, abscesos pulmonares e infección del espacio pleural (empiema o pus en la cavidad torácica) se presentan en caso de infecciones anaeróbicas mixtas.

La neumonía adquirida en el hospital (nosocomial) con frecuencia es causada por bacilos entéricos gramnegativos como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* y la *Legionella* también pueden ocasionar este tipo de neumonía. Hongos, incluyendo *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis* y *Cryptococcus neoformans*, producen neumonía adquirida en la comunidad; las especies cándida y *Aspergillus* tienden más a causar infecciones nosocomiales.

Cuadro 48-3. Características y tratamiento de neumonías específicas

Microorganismo	Características clínicas	Tinción de Gram del frotis de esputo	Radiografía de tórax ^a	Pruebas de laboratorio	Complicaciones	Terapéutica antimicrobiana preferida ^a	Capítulo
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Enfermedad cardiopulmonar crónica; secundario a infecciones de las vías respiratorias superiores	Diplococos grampositivos.	Consolidación lobar	Frotis de esputo teñido con Gram; cultivo de sangre o de líquido pleural.	Bacteriemia, meningitis, endocarditis, pericarditis empiema.	Penicilina G (o V oral).	15
<i>Haemophilus influenza</i>	Enfermedad cardiopulmonar crónica; subsecuente a infecciones de las vías respiratorias superiores	Cocobacilos gramnegativos pequeños	Consolidación lobar	Cultivo de esputo o de líquido pleural, hemocultivo	Empiema, endocarditis	Ampicilina (o amoxicilina) si son β -lactamasa negativos; cefotaxima o ceftriaxona	19
<i>Staphylococcus aureus</i>	Epidemias de influenza; nosocomial	Cocos grampositivos en racimos	Infiltrados en placas	Cultivo de esputo o de líquido pleural, hemocultivo	Empiema, cavidades	Nafcilina	14
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Abuso de alcohol, diabetes mellitus; nosocomial	Bacilos gramnegativos encapsulados	Consolidación lobar	Cultivo de esputo o de líquido pleural, hemocultivo	Cavidades, empiema	Una cefalosporina; para la infección grave añadir gentamicina o tobramicina	16
<i>Escherichia coli</i>	Nosocomial; rara vez adquirida en la comunidad	Bacilos gramnegativos	Infiltrados en placas, derrame pleural	Cultivo de esputo o de líquido pleural, hemocultivo	Empiema	Una cefalosporina de tercera generación	16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Nosocomial; fibrosis quística	Bacilos gramnegativos	Infiltrados en placas, cavidades	Cultivo de esputo o hemocultivo	Cavidades	Una penicilina antipseudomona (por ejemplo, ticarcilina, piperacilina) más tobramicina.	17
<i>Anaerobios</i>	Aspiración; periodontitis	Flora mixta	Infiltrados en placas en las zonas decubres del pulmón	Cultivo de líquido pleural o de material obtenido mediante aspiración trans-traqueal o transtorácica	Neumonía necrotizante, abscesos, empiema	Clindamicina	11, 48
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Adultos jóvenes; verano y otoño	PMN y monocitos; sin patógenos bacterianos.	Infiltrados en placas extensas	Titulación de la fijación del complemento; los títulos de aglutininas tras el suero resultan inútiles pues carecen de sensibilidad y de especificidad	Exantemas cutáneos, meningitis bulosa; anemia hemolítica	Eritromicina Azitromicina; o claritromicina	26

Cuadro 48-3. Características y tratamiento de neumonías específicas (continuación)

Microorganismo	Características clínicas	Tinción de Gram del frotis de esputo	Radiografía de tórax ¹	Pruebas de laboratorio	Complicaciones	Terapéutica antimicrobiana preferida ²	Capítulo
<i>Especies de Legionella</i>	Verano y otoño; exposición en construcciones contaminadas, fuentes de agua, aire acondicionado; adquirida en la comunidad o nosocomial	Pocos PMN; sin bacterias	Consolidación en placas o lobar	Inmunofluorescencia directa o cultivo de esputo o de tejido; títulos de anticuerpos; inmunofluorescentes ³	Empiema, cavidades, endocarditis, pericarditis	Eritromicina, azitromicina o claritromicina, con o sin rifampicina	23
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Clinicamente similar a la neumonía por <i>M. pneumoniae</i> , pero los síntomas prodromáticos tienen mayor duración (hasta dos semanas); son comunes las molestias en la garganta con ronquera; neumonía leve en adolescentes y adultos jóvenes.	Inespecífico	Infiltrados subsegmentarios, menos notables que en la neumonía por <i>M. pneumoniae</i> ; la consolidación es rara.	El aislamiento resulta muy difícil; los estudios serológicos incluyen microinmunofluorescencia con antígeno TWAR y pruebas inespecíficas de fijación del complemento mediante anticuerpos	La reinfección en los adultos mayores con EPOC o insuficiencia cardíaca subyacente puede resultar muy grave o incluso mortal.	Tetraciclina, eritromicina, claritromicina	28
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Enfermedad pulmonar preexistente; adulto mayor; tratamiento con corticosteroides o inmunopresores	Diplococos gramnegativos	Infiltrados en placas; en ocasiones consolidación lobar	Tinción de Gram y cultivo de esputo o de aspirado bronquial.	Rara vez derrames pleurales y bacteriemia.	Trimetoprim-sulfametoxazol o amoxicilina ácido clavulánico.	21
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	SIDA, tratamiento inmunosupresor	Carece de utilidad en el diagnóstico	Infiltrados intersticiales y alveolares diluidos; infiltrados apicales o del lóbulo superior con pentamida en aerosol	Quistes y trofozoitos de <i>P. jirovecii</i> con tinción argéntica de metenamina o la tinción de Giemsa para esputo o el líquido de lavado broncoalveolar	Neumolórax, insuficiencia respiratoria, SIRPA, muerte	Trimetoprim-sulfametoxazol, isoniazida o pentamida	45

¹ Los hallazgos en las radiografías de tórax carecen de especificidad.² Las pruebas de susceptibilidad microbiana deben guiar la terapéutica.³ Las infecciones por los *S. aureus* resistentes a la metilicina se tratan con vancomicina.⁴ El aumento de cuatro veces en los títulos es diagnóstico.⁵ Se requieren medios selectivos.

La biometría hemática de pacientes con neumonía generalmente muestra leucocitosis con incremento de las células polimorfonucleares. Las radiografías de tórax muestran infiltrados limitados a lóbulos o segmentos. Las cavidades se pueden observar especialmente con infecciones anaeróbicas o neumonía secundaria a *S. aureus* o estreptococos del grupo A. Los derrames pleurales pueden también evidenciarse y, si están presentes, pueden ser indicación para una toracocentesis a fin de obtener líquido pleural para examinar las cuentas celulares y someterlo a cultivo. En todos los pacientes con neumonía aguda se deben practicar hemocultivos, así como también cultivo del esputo.

La mayoría de los pacientes con neumonía bacteriana y muchos pacientes con neumonía secundaria a otras causas producen un esputo mucopurulento. El esputo herrumbroso o de color amarillo rojizo sugiere compromiso alveolar y se relaciona con neumonía neumocócica, aunque también se presenta en infecciones causadas por otros microorganismos. El esputo con olor fétido sugiere una infección mixta por bacterias anaeróbicas; en estos casos, se debe seleccionar una porción purulenta del esputo para someterla a tinción de Gram y examen microscópico. Una muestra adecuada de esputo mostrará la presencia de más de 25 células polimorfonucleares y menos de 10 células epiteliales por campo de bajo poder (100 × amplificación). Tradicionalmente, el examen microscópico del esputo se emplea para ayudar a establecer la causa de la neumonía; sin embargo, puede resultar difícil la diferenciación entre los microorganismos que forman parte de la flora orofaríngea normal y aquellos causantes de la neumonía. El dato de numerosos diplococos grampositivos con forma de lanceta es un dato altamente sugestivo de *S. pneumoniae*, aunque estreptococos que son parte de la flora orofaríngea pueden tener este mismo aspecto. El valor principal de los frotis de esputo teñido se obtiene cuando se identifican microorganismos que no se esperaba observar (p. ej., numerosas células polimorfonucleares, junto con numerosos bacilos gramnegativos sugestivos de bacilos entéricos o pseudomonas, numerosos cocos grampositivos en conglomerados sugestivos de estafilococos). El cultivo de esputo posee muchas de las desventajas del frotis: es difícil diferenciar la flora normal o bacterias colonizadoras de la causa de la neumonía.

La demostración veraz de la causa real de la neumonía deriva de un grupo limitado de muestras: un hemocultivo positivo de un paciente con neumonía sin otras coinfecciones, un cultivo positivo del aspirado pulmonar directo o del líquido pleural, y la detección de antígenos circulantes de un microorganismo patógeno específico sin la presencia de otras infecciones. Un cultivo positivo de esputo obtenido mediante aspiración transtraqueal posee gran utilidad; los cultivos del líquido obtenido a través de broncoscopia también son muy sugestivos de la causa de neumonía, aunque una cantidad pequeña de la flora orofaríngea normal suele estar presente en tales cultivos.

Tres de las causas principales de neumonía adquirida en la comunidad (*S. pneumoniae*, *Mycoplasma* y *Legionella*), así como *Chlamydia pneumoniae* casi siempre son sensibles a eritromicina y otros macrólidos. Es así que eritromicina, azitromicina o claritromicina se puede emplear para tratar la mayor parte de los casos de neumonías adquiridas en la comunidad. La penicilina G es el agente farma-

cológico de elección si el diagnóstico es neumonía neumocócica; no obstante, cada vez hay más cepas de neumococos resistentes a penicilina G y, en algunas ocasiones, a eritromicina. *H. influenzae* no es susceptible a eritromicina. Otras causas de neumonía se deben tratar sólo con antibióticos que ya demostraron ser activos en contra de los agentes causales.

CORAZÓN

CASO 5: ENDOCARDITIS

Una mujer de 45 años de edad ingresó al hospital debido a la presencia de fiebre, respiración entrecortada y pérdida de peso. Temblores, sudoraciones y anorexia comenzaron seis semanas antes de su ingreso y se incrementaron en intensidad hasta ese día. Cuatro semanas antes de su admisión, la paciente comenzó a presentar dolor de espalda persistente: la respiración entrecortada al realizar esfuerzos físicos se incrementó hasta el punto de reducir la rutina de caminata de tres cuerdas a sólo una. Al momento del ingreso, la paciente refirió pérdida de peso de 5 kg.

En la infancia se le diagnosticó fiebre reumática con base en los antecedentes de tumefacción articular y fiebre, siendo confinada a tres meses de reposo en cama. Posteriormente se le detectó un soplo cardíaco.

Datos clínicos

Al ingreso la temperatura fue de 38 °C, frecuencia cardíaca de 90/min, frecuencia respiratoria de 18/min y tensión arterial de 130/80 mm Hg.

La exploración física descubrió a una mujer con sobrepeso moderado que conservaba el estado de alerta y el sentido de la orientación. Se le pidió a la paciente que subiera las escaleras, pero sólo logró subir dos escalones debido a la dificultad respiratoria que se suscitó. El examen del fondo de ojo reveló una mancha de Roth (una mancha blanda redonda rodeada por hemorragia) en la retina del ojo derecho. En la conjuntiva de ambos ojos se identificaron petequias. Cabeza y cuello se encontraron normales. Debajo de dos uñas de la mano derecha y en un dedo de la mano izquierda se identificaron hemorragias con aspecto astilloso. En las yemas de un dedo de la mano y de un dedo del pie se detectaron nódulos de Osler (lesiones de la piel de color púrpura o rojas, con relieve, dolorosas y pequeñas). A la percusión se percibió un corazón de tamaño normal. A la auscultación en el ápex se identificó un soplo diastólico discreto con estenosis de la válvula mitral; en el tórax izquierdo se auscultó un ruido muy fuerte correspondiente a la apertura de la válvula mitral. La exploración del abdomen se dificultó debido a la obesidad de la paciente; uno de los examinadores percibió un bazo crecido. El resto de la exploración física fue normal.

Datos de laboratorio e imagenología

Las placas de rayos X de tórax descubrieron un corazón de tamaño normal y campos pulmonares también normales. El ECG reveló un ritmo sinusal normal con ondas P amplias (conducción auricular). La ecocardiografía demostró crecimiento de la aurícula izquierda, engrosamiento de las valvas de la válvula mitral y la presencia de una vegetación en la valva posterior. El hematocrito fue de 29% (bajo); la fórmula blanca fue de $9\ 800/\mu\text{L}$ (normal alta), con 68% de PMN (alto), 24% de linfocitos y 8% de monocitos. La velocidad de sedimentación globular fue de 68 mm/hora (alta). La química sanguínea, incluyendo electrolitos séricos y pruebas de función renal, resultó normal. Se realizaron tres hemocultivos el día del ingreso al hospital; al día siguiente los tres cultivos resultaron positivos para cocos grampositivos en cadenas identificadas como estreptococos *viridans* correspondientes a *Streptococcus sanguis*.

Tratamiento

Endocarditis de la válvula mitral fue el diagnóstico definitivo. Se inició terapia con penicilina G y gentamicina vía intravenosa y se continuó durante dos semanas. La paciente se encontró afebril al tercer día de comenzar la terapia. Después del tratamiento exitoso de su endocarditis infecciosa, se le canalizó con el especialista para el manejo a largo plazo de la enfermedad cardíaca subyacente.

Comentario

Los signos y síntomas de **endocarditis** son muy variados, debido a que cualquier sistema de órganos puede estar comprometido de manera secundaria (o primaria). La fiebre se presenta en 80 a 90% de los pacientes, los temblores en 50%, anorexia y pérdida de peso en 25%, lesiones cutáneas en casi 25%. Síntomas inespecíficos como cefalea, dorsalgia, tos y artralgia son muy comunes. Hasta 25% de los pacientes con endocarditis presentan signos neurológicos o accidente vascular cerebral secundario a un émbolo derivado de las **vegetaciones de la válvula cardíaca** afectada. La dorsalgia, el dolor torácico y el dolor abdominal se presentan en 10 a 20% de los pacientes. Los datos físicos típicamente incluyen fiebre en 90 a 95% de los casos, un **soplo cardíaco** en 80 a 90% con un nuevo o cambiante soplo cardíaco en alrededor de 15%, y esplenomegalia y lesiones cutáneas en 50% de los pacientes aproximadamente. Muchos otros síntomas y datos de la exploración física se relacionan directamente con las complicaciones de la infección diseminada y formación de émbolos a partir de las vegetaciones.

Los estreptococos causan casi 70% de los casos de endocarditis. Los estreptococos *viridans* de diversas especies (p. ej., *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. bovis*; capítulo 15) son los más comunes, seguidos por enterococos (p. ej., *E. faecalis*) y otros estreptococos. Los estreptococos generalmente causan endocarditis en válvulas cardíacas previamente anormales. *S. aureus* causa 20 a 25% y *Staphylococcus epidermidis* alrededor de 5% de todas las endocarditis (capítulo 14). *S. aureus* puede infectar válvulas cardíacas normales; esto es más común en usuarios de drogas intravenosas, pro-

duciendo una enfermedad rápidamente progresiva comparada con la causada por estreptococos. *S. epidermidis* produce endocarditis en prótesis valvulares y en casos muy raros infecta válvulas nativas. Los bacilos gramnegativos se aíslan en 5% de las endocarditis, y las levaduras, como *Candida albicans*, en 3%. Muchas otras bacterias —de hecho cualquier especie—, pueden causar endocarditis; un porcentaje pequeño de ellas no se evidencian en los cultivos (cultivos negativos).

El interrogatorio y la exploración física son procedimientos diagnósticos de gran importancia. El diagnóstico se sugiere firmemente en presencia de hemocultivos repetidamente positivos y sin evidencia de infección en algún otro sitio. La ecocardiografía puede ser un procedimiento diagnóstico complementario muy útil; la presencia de vegetaciones en un paciente con fiebre inexplicable es un dato altamente sugestivo de endocarditis.

El tratamiento antibiótico es esencial, puesto que la endocarditis sin tratamiento resulta fatal; se deben emplear agentes bactericidas. La elección de los antibióticos dependerá del microorganismo infeccioso: se utiliza penicilina G más gentamicina durante dos semanas para los estreptococos *viridans* y durante cuatro semanas para enterococos; *S. aureus* se trata con una penicilina resistente a penicilinas (p. ej., nafcilina), generalmente combinada con gentamicina, durante dos semanas, quizá se puede utilizar rifampicina; la vancomicina es un fármaco alternativo a la penicilina G y nafcilina para tratar estreptococos y estafilococos y las bacterias distintas a estreptococos y estafilococos se tratan con antibióticos con actividad demostrada. A veces es necesaria la cirugía para reemplazo valvular en caso de regurgitación valvular (p. ej., regurgitación aórtica) que resulta en insuficiencia cardíaca aguda aun cuando la infección activa está presente. La cirugía se requiere cuando la endocarditis es de origen micótico y la terapia médica fracasó; con mucha frecuencia es necesaria en los casos de endocarditis causada por gérmenes gramnegativos, así como en casos donde la infección compromete al seno de Valsalva o produce abscesos septales, y cuando hay recurrencia de émbolos.

ABDOMEN

CASO 6: PERITONITIS Y ABCESOS

Un estudiante de sexo masculino de 18 años de edad ingresó al hospital debido a la presencia de fiebre y dolor abdominal; tres días antes al ingreso se encontraba con buen estado general y repentinamente presentó dolor abdominal difuso y vómito posteriores a la cena de la noche previa al día de admisión. El dolor persistió toda la madrugada y empeoró en la mañana. El paciente se examinó en el servicio de urgencias, donde se encontró dolor e hiperestesia abdominales; las placas de rayos X de tórax y abdomen fueron normales; la cuenta leucocitaria fue de $24\ 000/\mu\text{L}$.

otras pruebas de laboratorio, incluyendo las pruebas de función hepática, pancreática y renal, resultaron normales. El paciente regresó a casa, pero el dolor abdominal y el vómito intermitente persistieron: comenzó a presentar fiebre de 38 °C; ingresó de nuevo al hospital al tercer día de evolución de la enfermedad.

El paciente no tenía antecedentes de consumo de medicamentos, de abuso de drogas o alcohol, de infecciones, y los antecedentes hereditarios fueron negativos.

Datos clínicos

La temperatura fue de 38 °C, la frecuencia cardíaca de 100/min, la frecuencia respiratoria de 24/min y la tensión arterial de 110/70 mm Hg.

La exploración física identificó un individuo joven con desarrollo normal, con malestar y que se quejaba de dolor abdominal difuso. La exploración de tórax y área cardíaca fue normal; el abdomen se encontró ligeramente distendido. A la palpación, se presentó dolor difuso en la región periumbilical y en el cuadrante inferior derecho, así como resistencia muscular (rigidez muscular a la palpación). La exploración sugería la presencia de una masa en el cuadrante inferior derecho del abdomen. Los ruidos intestinales eran escasos.

Datos de laboratorio e imagenología

El hematocrito fue de 45% (normal) y la cuenta leucocitaria de 20 000/ μ L (marcadamente elevada) con 90% de células polimorfonucleares (muy elevadas) y 12% de linfocitos. La amilasa sérica (una prueba para diagnosticar pancreatitis) fue normal. Los electrolitos séricos y las pruebas de función hepática y renal también resultaron normales. Las placas de rayos X de tórax y abdomen no revelaron datos patológicos, aunque sí se observaron muchas asas de intestino delgado distendidas. El análisis tomográfico del abdomen identificó colección de líquido en el cuadrante inferior derecho con extensión hacia pelvis.

Tratamiento

El paciente se intervino quirúrgicamente. Durante la cirugía se encontró un apéndice perforado con un gran absceso periapendicular que se extendió hacia la pelvis. Se reseco el apéndice y se evacuaron 300 mL de líquido de absceso de olor fétido; se colocaron drenajes. El paciente se trató médicamente con gentamicina, ampicilina y metronidazol durante dos semanas. Los drenajes se retiraron poco a poco diariamente para finalmente retirarlos por completo 1 semana después de la cirugía. El cultivo del líquido de absceso reveló la presencia de al menos seis especies de bacterias, incluyendo *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis*, estreptococos *viridans* y enterococos (flora gastrointestinal normal). El paciente se recuperó completamente sin complicaciones.

Comentario

El dolor suele ser la manifestación principal e inicial de peritonitis y de la formación de abscesos intraabdomina-

les. La localización y la intensidad del dolor se relacionan con la enfermedad primaria de las vísceras abdominales. La perforación de una úlcera péptica rápidamente genera dolor epigástrico que muy pronto se irradia a todo el abdomen con el derramamiento del contenido gástrico. Un apéndice o un divertículo de colon sigmóides perforado suele producir un dolor más localizado en el cuadrante inferior derecho o izquierdo, respectivamente, relacionado con peritonitis focal y formación de absceso. Náuseas, vómito, anorexia y fiebre son síntomas frecuentes que acompañan al dolor.

Los signos y síntomas que se generan después del derrame agudo del contenido intestinal en la cavidad abdominal tienden a presentarse en dos etapas. La primera es la etapa de peritonitis, con dolor agudo relacionado con infección causada por *E. coli* y otras bacterias anaerobias facultativas: esto sucede durante los primeros 1 a 2 días y si no se trata en este periodo se acompaña de una muy elevada mortalidad. La segunda etapa es la formación de absceso relacionada con infección causada por *B. fragilis* y otras bacterias anaerobias obligadas.

La exploración física durante la fase aguda revela resistencia abdominal y dolor difuso o local. Muy a menudo se observa que el dolor se incrementa cuando cesa la palpación del abdomen, lo cual se denomina **dolor de rebote** (signo de rebote positivo). Posteriormente se desarrolla distensión abdominal y pérdida de la motilidad intestinal (**íleo paralítico**).

Las bacterias que conforman la **flora gastrointestinal normal** (capítulo 11) son la causa de la peritonitis aguda y de los abscesos relacionados con perforación intestinal: *E. coli* y otros bacilos gramnegativos entéricos, enterococos, estreptococos *viridans*, *B. fragilis* y otros bacilos gramnegativos anaerobios, así como cocos y bacilos grampositivos anaerobios de muchas especies.

El interrogatorio y la exploración física son pasos iniciales importantes para establecer el diagnóstico y determinar el tiempo de evolución y la localización del problema. Las pruebas de laboratorio, como la fórmula blanca, emiten resultados anómalos inespecíficos o que sólo contribuyen a descartar enfermedades como pancreatitis, como en este caso. Las placas de rayos X de abdomen son herramientas diagnósticas complementarias de gran utilidad y pueden revelar la presencia de gas y colección de líquido en los intestinos grueso y delgado. La mayor parte de la información definitiva que indica la localización del problema se obtiene a través de análisis tomográficos. Cuando hay presencia de líquido, la aspiración con aguja y el cultivo proporcionan el diagnóstico de infección, mas no definen el proceso patológico subyacente.

La cirugía puede ser necesaria para establecer el diagnóstico definitivo, al mismo tiempo que, en muchas ocasiones, representa un paso terapéutico definitivo. El proceso patológico de fondo, como un intestino gangrenoso o perforación de apéndice, se puede corregir y drenar la infección localizada. Los agentes antimicrobianos son parte importante de la terapia integral. La selección de los fármacos puede incluir algún agente activo contra bacilos gramnegativos entéricos, otro activo contra enterococos y estreptococos, y uno tercero efectivo contra bacilos gramnegativos anaerobios que muy a menudo son resistentes a

penicilina G. Existen muchos esquemas terapéuticos; uno de ellos combina gentamicina, ampicilina y metronidazol.

CASO 7: GASTROENTERITIS

Cuatro miembros de una familia de granjeros emigrantes ingresaron al hospital a causa de diarrea y fiebre, las cuales habían iniciado 6 a 12 h previas a la admisión. El padre de la familia tenía 28 años de edad, la madre 24 y los niños 6 y 4 años. El día anterior, la familia había ingerido en una comida ensalada mixta de vegetales verdes, carne picada, frijoles y tortillas preparadas por otra persona del campamento. Otro niño de la familia, de ocho meses de edad, no había comido estos alimentos y no presentó la enfermedad. Aproximadamente 24 h después de la comida, los niños presentaron retortijones abdominales, fiebre y diarrea acuosa. Estos síntomas persistieron durante las 12 h previas al ingreso y en ambos niños la diarrea se volvió sanguinolenta. Los padres de los niños presentaron síntomas similares 6 y 8 h previas, pero no evacuaron heces con sangre visible.

Los padres refirieron que muchas otras personas del campamento también desarrollaron una enfermedad similar durante las dos semanas anteriores. Las medidas de saneamiento e higiene del campamento eran precarias.

Datos clínicos

A la exploración física los niños presentaron temperaturas de 39 a 39.5 °C y sus padres de 38 °C. Todos desarrollaron taquicardia y su aspecto era evidentemente de enfermedad aguda. Ambos niños parecían deshidratados.

Las cuentas leucocitarias variaron desde 12 000 hasta 16 000/ μ L, con 55 a 76% de células polimorfonucleares. En el examen de la materia fecal en fresco se identificaron múltiples leucocitos. Las heces de los niños macroscópicamente contenían sangre y moco. El coprocultivo de cada uno de los padres mostró crecimiento de *Shigella flexneri*.

Tratamiento

Ambos niños se hospitalizaron para rehidratarlos con líquidos vía intravenosa y administrarles ampicilina. Los padres se trataron de manera ambulatoria con líquidos orales y ciprofloxacina vía oral. Todos se recuperaron sin complicaciones. El departamento de salud pública promovió la implantación de mejores condiciones de saneamiento en el campamento.

Comentario

Náuseas, vómito, dolor abdominal, diarrea y fiebre son los datos clínicos principales de las infecciones gastrointestinales. Los síntomas predominantes dependen del agente etiológico y de si es toxigénico o invasivo o ambas situaciones. Cuando los alimentos contienen toxinas preformadas, generalmente hay presencia de náuseas y vómito. Por ejemplo, *S. aureus* y *Bacillus cereus* producen enterotoxinas en los alimentos; la náusea y el vómito -y, en un grado mucho menor, diarrea- se presentan pocas horas después de

la ingestión del alimento contaminado. Los microorganismos que producen enterotoxinas afectan la porción proximal del intestino delgado y tienden a causar una **diarrea acuosa** (p. ej., *E. coli* enterotoxigénica, *Vibrio cholerae*). Agentes como los rotavirus, virus Norwalk y *Giardia lamblia* producen una diarrea acuosa a través de un mecanismo donde hay irritación o destrucción de la mucosa. Las bacterias invasivas o productoras de citotoxinas infectan el colon y generan dolor abdominal, diarrea frecuente que a menudo contiene moco y sangre, fiebre y deshidratación, como en este caso: este grupo de signos y síntomas se denomina **disentería**. Los microorganismos que causan disentería incluyen a *Salmonellas* de muchos serotipos, *Shigellas*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli* enteroinvasiva, *Clostridium difficile* y *Entamoeba histolytica*. La **fiebre entérica** (fiebre tifoidea) es una infección que pone en peligro inminente la vida y se caracteriza por la presencia de fiebre, cefalea y síntomas abdominales variables. *Salmonella typhi* (también *S. paratyphi* A y B, y *S. choleraesuis*) y *Yersinia enterocolitica* producen fiebre tifoidea. Los agentes que comúnmente causan gastroenteritis inducida por toxinas e infecciones gastrointestinales se listan en el cuadro 48-4.

Las infecciones gastrointestinales son muy comunes, especialmente en países en vías de desarrollo, donde el índice de mortalidad relacionado con estos cuadros es muy alto en niños preescolares, así como escolares pequeños. La prevención en salud pública a través de la difusión de medidas higiénicas adecuadas y suministro de agua potable y alimentos no contaminados posee una importancia radical.

Sólo en un porcentaje pequeño de casos el agente etiológico se identifica a través de coprocultivos o inmunoensayos de heces. El dato de leucocitos en la materia fecal fresca es altamente sugestivo de infección.

Mantener una hidratación adecuada es el aspecto fundamental del tratamiento, especialmente en preescolares y escolares. La terapia antimicrobiana es necesaria dentro del tratamiento de **fiebre tifoidea** (o fiebre entérica) y acorta la duración de los síntomas de infecciones causadas por *Shigella*, *campylobacter* y *V. cholerae*, aunque por otro lado prolonga los síntomas y desecho fecal de *Salmonella*.

No existe una terapia específica para la infección generada por rotavirus, la causa más común de diarrea viral.

Blacklow NR, Greenberg HB: Viral gastroenteritis. N Engl J Med 1991;325:252.

Guerrant RL, Bobak DA: Bacterial and protozoal gastroenteritis. N Engl J Med 1991;325:327.

TRACTO URINARIO

CASO 8: INFECCIÓN VESICAL AGUDA NO COMPLICADA

Una mujer de 21 años de edad se presentó en el servicio médico de la universidad refiriendo aumento de la frecuen-

Cuadro 48-4. Agentes que con frecuencia causan gastroenteritis e Infecciones gastrointestinales inducidas por toxinas

Microorganismo	Período de incubación	Signos y síntomas	Epidemiología	Patogenia	Características clínicas	Capítulo
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 a 8 h (rara vez hasta 18)	Náuseas y vómito	Los estafilococos crecen en carnes, lácteos y otros alimentos y producen enterotoxina	La enterotoxina actúa sobre los receptores en el intestino los cuales transmiten a los centros del bulbo raquídeo los impulsos que controlan el vómito	Muy común, inicio rápido, vómitos intensos hasta por 24 h, por lo regular recuperación en 24 a 48 h. Se presenta en las personas que comieron el mismo alimento. Por lo general no se requiere tratamiento, excepto para restaurar los líquidos y electrolitos	14
<i>Bacillus cereus</i>	2 a 16 h	Vómito o diarrea	El arroz frito recalentado es un vehículo común	La enterotoxina formada en los alimentos o en el intestino proviene del crecimiento del <i>B. cereus</i> .	Con un período de incubación de 2 a 8 h ocasional, principalmente vómitos. Con un período de incubación de 8 a 16 h, provoca principalmente diarrea.	12
<i>Clostridium perfringens</i>	8 a 16 h	Diarrea acuosa	Los clostridios crecen en los platos de carne recalentados. Se ingieren grandes cantidades	La enterotoxina producida durante la esporulación en el intestino, causa hipersecreción.	Inicio abrupto de diarrea profusa; en ocasiones vómitos. La remisión por lo general acontece sin tratamiento en 1 a 4 días. Muchos clostridios en los cultivos del alimento y de las heces de los pacientes	12
<i>Clostridium botulinum</i>	18 a 24 h	Parálisis	El <i>C. botulinum</i> crece en los alimentos con anaerobios y produce toxina.	La toxina absorbida en el intestino bloquea la acetilcolina en la unión neuromuscular	Diplopía, disfagia, disfonía, dificultad respiratoria. El tratamiento requiere apoyo ventilatorio y antitoxina. El diagnóstico se confirma con el hallazgo de la toxina en la sangre o en las heces.	12
<i>Escherichia coli</i> (enterotoxigénica; ECEt)	24 a 72 h	Diarrea acuosa	Causa más común de la "diarrea del viajero"	La ECET en el intestino produce enterotoxinas termolábiles (LT) o termoestables (TE). Las toxinas producen hipersecreción en el intestino delgado.	Por lo general inicio abrupto de diarrea; vómito rara vez. Una infección grave en los recién nacidos. En los adultos por lo general se autolimita en 1 a 3 días	9, 16
<i>Escherichia coli</i> (enteroinvasora; ECEi)	48 a 72 h	Disenteria	Brotes ocasionales de disenteria; causa infrecuente de infección esporádica	Invasión inflamatoria de la mucosa colónica; similar a la shigelosis. La ECEi se parece mucho a la <i>Shigella</i>	Diarrea aguda sanguinolenta con malestar, cefalea, fiebre alta y dolor abdominal. Enfermedad grave en los niños desnutridos. Leucocitos presentes en las heces	9, 16
<i>Escherichia coli</i> (enterohemorrágica; ECEH)	24 a 72 h	Diarrea acuosa y sanguinolenta	Diarrea sanguinolenta vinculada con hamburguesas mal cocidas en los restaurantes de comida rápida	La ECEH produce verotoxina (toxina similar a la Shiga). Con frecuencia se identifica al serotipo 0157:H7	Produce diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica y la mayor parte de las causas del síndrome urémico hemolítico. Cultivo de las heces para detectar la <i>E. coli</i> negativa al sorbitol y serotipificar los aislados con antisuero 0157:H7	9, 16

Cuadro 48-4. Agentes con frecuencia causantes de gastroenteritis inducida por toxinas y de infecciones gastrointestinales (continuación)

Microorganismo	Periodo de incubación	Signos y síntomas	Epidemiología	Patogenia	Características clínicas	Capítulo
<i>Escherichia coli</i> (enteropatógena; ECEP)	De inicio lento	Diarrea acuosa	Causa común de diarrea en los neonatos de los países en desarrollo. De manera clásica produce diarrea epidémica en las guarderías y cuneros con grandes tasas de mortalidad; en la actualidad es menos común en los países desarrollados	La ECEP se adhiere a las células de la mucosa epitelial y da lugar a cambios en su citoesqueleto; puede invadir las células. Difiere de las otras <i>E. coli</i> con propiedades enteroadhentes o enterotóxicas que producen diarrea	Inicio insidioso en el transcurso de 3 a 6 días con indiferencia, escasa alimentación y diarrea. Por lo general dura de 5 a 15 días. La deshidratación, el desequilibrio electrolítico y otras complicaciones son capaces de producir la muerte. El tratamiento antimicrobiano es importante	9, 16
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	6 a 96 h	Diarrea acuosa	Los microorganismos crecen en mariscos y pescados e invaden el intestino y producen toxina	Las toxinas causan hipersecreción; los vibrios invaden el epitelio; las heces pueden ser sanguinolentas	Inicio abrupto de diarrea en grupos que consumieron el mismo alimento, en especial mariscos y cangrejos. La recuperación por lo general es completa en 1 a 3 días. Los cultivos del alimento y de las heces resultan positivos	18
<i>Vibrio cholerae</i>	24 a 72 h	Diarrea acuosa	Los microorganismos crecen en el intestino y producen toxina	La toxina causan hipersecreción en el intestino delgado. Dosis infectante $>10^5$ microorganismos	Inicio abrupto de diarrea líquida en las regiones endémicas. Se requiere de la reposición rápida de los líquidos y electrolitos por vías IV u oral. El cultivo de heces resulta positivo	9, 18
Especies de <i>Shigella</i> (casos leves)	24 a 72 h	Disenteria	Los microorganismos crecen en el epitelio de la superficie del intestino	Los microorganismos invaden las células epiteliales; presencia de sangre, moco y PMN en las heces. Dosis infectante $<10^3$ microorganismos	Inicio abrupto de diarrea; puede haber sangre o pus en las heces, cólicos, tenesmo y letargo. Leucocitos en las heces. Los cultivos de heces resultan positivos. A menudo leve y auto limitada. Reponer los líquidos	16
<i>Shigella dysenteriae</i> tipo 1 (bacilo de Shiga)	24 a 72 h	Disenteria, diarrea sanguinolenta	Causa brotes en los países en desarrollo	Produce citotoxina y neurotoxina	Diarrea sanguinolenta intensa en niños de los países en desarrollo; tasa de mortalidad grande. Poco común en EUA	16
Especies de <i>Salmonella</i>	8 a 48 h	Disenteria	Los microorganismos crecen en el intestino. No producen toxina	Infección superficial del intestino con ligera invasión. Dosis infectante $>10^6$ microorganismos	Inicio gradual o abrupto de diarrea y fiebre de poca intensidad. Leucocitos en las heces. Los cultivos de heces resultan positivos. No administrar antibióticos a menos que se sospeche diseminación sistémica. Es frecuente el estado de portador durante mucho tiempo	16
<i>Clostridium difficile</i>	Días a semanas después de terapéutica antibiótica	Disenteria	Colitis pseudomembranosa vinculada con antibióticos	Elabora enterotoxina y citotoxina, las cuales producen diarrea y necrosis de las células epiteliales	Inicio abrupto de diarrea sanguinolenta y de fiebre. Toxina en las heces. Es clásico que los pacientes hayan recibido antibióticos en los días o semanas previos	12
<i>Campylobacter jejuni</i>	2 a 10 días	Disenteria	Infección por vía oral debida a alimentos, mascotas. Los microorganismos crecen en el intestino delgado	Invasión de la membrana mucosa. Inciata la producción de toxina	Fiebre, diarrea; PMN y sangre fresca en las heces, especialmente en los niños. Por lo general autolimitada. Requiere de medios especiales para cultivo a 42 °C. Los pacientes por lo general se recuperan en 5 a 8 días	18

Cuadro 48-4. Agentes con frecuencia causantes de gastroenteritis inducida por toxinas y de infecciones gastrointestinales (continuación)

Microorganismo	Periodo de incubación	Signos y síntomas	Epidemiología	Patogenia	Características clínicas Capítulo	Capítulo
<i>Rotavirus</i>	48 a 96 h	Diarrea acuosa	Los virus son la principal causa de enfermedad diarreica en los lactantes y niños pequeños de todo el mundo	Induce cambios histopatológicos en las células de la mucosa intestinal	La fiebre y el vómito por lo general preceden a la molestia abdominal y a la diarrea. En los países en desarrollo la muerte se debe a la deshidratación y al desequilibrio electrolítico. El curso clásico es de 3 a 9 días. El diagnóstico se realiza mediante la detección con inmunoenálisis de los antígenos de rotavirus en las heces	37
<i>Giardia lamblia</i>	1 a 2 semanas	Diarrea acuosa	Es el parásito intestinal identificado con más frecuencia. Patógeno frecuente en los brotes de diarrea transmitidos por agua	Interacción compleja y poco comprendida del parásito con las células de la mucosa y con la respuesta inmunitaria del paciente	Diarrea que se autolimita en 1 a 3 semanas; los síntomas crónicos de diarrea intermitente, malabsorción y pérdida de peso pueden durar hasta seis meses. Diagnóstico mediante el hallazgo de los trofozoitos o quistes en las heces o en el contenido duodenal, o mediante inmunoenálisis para la detección del antígeno de Giardia en las heces	46
<i>Entamoeba histolytica</i>	Inicio gradual 1 a 3 semanas	Disenteria	La prevalencia es más alta en los países en desarrollo; puede estar infectada 10% de la población mundial	Invade la mucosa del colon y lisa las células, incluso los leucocitos	Son comunes la diarrea, el dolor abdominal, la pérdida de peso y la fiebre. Puede dar origen a muchas complicaciones las cuales incluyen colitis fulminante, perforación y abscesos hepáticos. Diagnóstico mediante el hallazgo de los trofozoitos o quistes en las heces	46
<i>Salmonella typhi</i> (<i>S. paratyphi</i> A y B; <i>S. choleraesuis</i>)	10 a 14 días	Fiebre entérica	Los humanos son el único reservorio de la <i>S. typhi</i>	Invade la mucosa intestinal y se multiplica en los macrófagos de los folículos linfáticos intestinales; ingresa a los ganglios linfáticos mesentéricos y a la sangre y se disemina	Inicio insidioso de malestar, anorexia, mialgias y cefalea; fiebre alta que remite, pueden presentarse constipación o diarrea. Hepatoesplenomegalia en cerca de 50% de los pacientes. Diagnóstico mediante el aislamiento de la <i>S. typhi</i> en cultivo de sangre, heces o de otros sitios. Es importante el tratamiento antibiótico	16
<i>Yersinia enterocolitica</i>	4 a 7 días	Fiebre entérica	Transmisión fecal-oral. Transmitido por alimentos. Animales infectados	Gastroenteritis o adenitis mesentérica. En ocasiones bacteriemia. Algunas veces produce toxina	Dolor abdominal, diarrea, fiebre intensos; PMN y sangre en las heces; poliartitis, eritema nudo en especial en niños. Conservar la muestra a 4 °C antes del cultivo	20

*La toxina del cólera y la toxina termolábil de la *E. coli* estimulan la actividad de la adenilato ciclasa para incrementar la concentración del cAMP en el intestino lo cual lleva a la secreción de cloruro y agua y a la disminución de la absorción del sodio. La toxina termoestable de la *E. coli* activa la guanilato ciclasa intestinal y esto resulta en hipersensibilización

cia urinaria de dos días de evolución acompañada de urgencia urinaria y disuria. La orina adquirió un color rosado o sanguinolento durante 12 h aproximadamente. La paciente no tenía antecedentes de infección de vías urinarias, pero había iniciado su vida sexual activa recientemente y utilizaba diafragma y espermicida.

Datos clínicos

La temperatura al ingreso fue de 37.5 °C, frecuencia cardíaca de 105/min, frecuencia respiratoria de 18/min y presión arterial de 105/70 mm Hg.

A la exploración física únicamente se encontró como dato anormal dolor leve a la palpación profunda del área suprapúbica.

Datos de laboratorio

Las pruebas de laboratorio indicaron una elevación ligera de la cuenta leucocitaria de 13 000/μL con 66% de PMN (los también elevados). El nitrógeno ureico sanguíneo, la creatinina, glucosa y electrolitos séricos se encontraron normales. El sedimento urinario contenía leucocitos innumerables, eritrocitos en cantidad moderada y muchas bacterias sugestivas de infección de vías urinarias. El cultivo reveló el crecimiento de más de 10⁵ unidades formadoras de colonia (UFC)/mL de *E. coli* (diagnósticas de infección de vías urinarias). No se realizaron pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

Tratamiento

La paciente se curó a los tres días de terapia con sulfametoxazol-trimetoprim.

Comentario

Véase después.

CASO 9: INFECCIÓN COMPLICADA DEL TRACTO URINARIO

Un hombre de 67 años de edad presentó fiebre y choque a los tres días después de haberse sometido a una resección transuretral de la glándula prostática. Dos semanas antes el paciente había presentado obstrucción urinaria con retención secundaria al crecimiento de la glándula; el diagnóstico fue hiperplasia prostática benigna. Fue necesaria la cateterización vesical. Al finalizar la cirugía, se dejó un catéter vesical conectado a un sistema cerrado de drenaje. Dos días después dos días de la cirugía, el paciente presentó fiebre de 38 °C; al tercer día del postoperatorio mostró confusión y desorientación, así como temblores muy intensos.

Datos clínicos

La temperatura fue de 39 °C, la frecuencia cardíaca de 120/min, la frecuencia respiratoria de 24/min y la tensión arterial de 90/40 mm Hg.

A la exploración física el paciente contestó correctamente su nombre, pero se encontraba desorientado en tiempo y lugar. La exploración de la región cardiopulmonar y del abdomen fue normal. Se encontró sólo ligero dolor localizado en el área costovertebral del riñón izquierdo.

Datos de laboratorio

Las pruebas de laboratorio indicaron un hematocrito y una hemoglobina normales, pero con elevación de la cuenta leucocitaria de 18 000/μL: 85% de PMN (muy elevado). El nitrógeno ureico sanguíneo, la creatinina, la glucosa y los electrolitos séricos se hallaron normales. Se colectó una muestra de orina a través el catéter mediante aguja y jeringa. El sedimento urinario contenía leucocitos innumerables, algunos eritrocitos y numerosas bacterias, lo cual indicaba una infección de vías urinarias. El urocultivo mostró crecimiento de más de 10⁵ UFC/mL de *Klebsiella pneumoniae*, confirmando así el diagnóstico de infección del tracto urinario. El hemocultivo también reveló la presencia de *K. pneumoniae*, la cual resultó susceptible a cefalosporinas de tercera generación, a gentamicina y tobramicina.

Tratamiento y evolución intrahospitalaria

El paciente sufrió una infección del tracto urinario relacionada con la presencia del catéter vesical. Se pensó en el compromiso del riñón izquierdo debido al dolor en el ángulo costovertebral izquierdo. El paciente también desarrolló bacteriemia y choque (a veces denominada sepsis por gramnegativos y choque): fue tratado con líquidos y antibióticos vía intravenosa, logrando recuperarse por completo. La misma cepa de *K. pneumoniae* se aisló de otros pacientes del mismo hospital, lo cual indicó una diseminación nosocomial de la bacteria.

Comentario

Las infecciones del tracto urinario pueden involucrar sólo el tracto inferior o ambos tractos superior e inferior. Cistitis es el término empleado para describir la infección de vejiga, siendo los signos y síntomas disuria, urgencia para orinar y poliaquiuria (aumento de la frecuencia de las micciones), como en el caso 8. Pielonefritis es el término empleado para describir una infección del tracto superior, a menudo caracterizada por dolor de flanco e hiperestesia, acompañados por disuria, urgencia para orinar y poliaquiuria, como en el caso 9. La cistitis y la pielonefritis suelen presentarse como enfermedades agudas, aunque son muy frecuentes también las infecciones recurrentes o crónicas.

En general se acepta que 10⁵ o más UFC/mL de orina representa una bacteriuria significativa, aun cuando los pacientes se encuentren sintomáticos o asintomáticos. Algunas mujeres jóvenes experimentan disuria y otros síntomas de cistitis con menos de 10⁵ UFC/mL de orina; en estas mujeres tan sólo 10³ UFC/mL de un bacilo gramnegativo se considera una bacteriuria significativa.

La prevalencia de bacteriuria es de 1 a 2% en niñas con edad escolar, 1 a 3% en mujeres no embarazadas y 4 a

7% durante el embarazo. La prevalencia de bacteriuria se incrementa con la edad, casi igualándose la relación entre ambos sexos. Alrededor de los 70 años, 20 a 30% o más de las mujeres y 10% o más de los hombres presentan bacteriuria. Las infecciones de las vías urinarias superiores de manera rutinaria se presentan en pacientes con catéteres intravesicales, aun cuando la atención y cuidados del catéter y los sistemas cerrados de drenaje son adecuados: en 50% de los casos se evidencia bacteriuria después de cuatro a cinco días de la colocación del catéter, en 75% después de siete a nueve días y en 100% después de dos semanas. La actividad sexual y el uso de espermicidas incrementan el riesgo para una infección de vías urinarias en las mujeres jóvenes.

E. coli (capítulo 16) causa 80 a 90% de las infecciones del tracto urinario superior agudas, no complicadas (cistitis), en mujeres jóvenes. Otras bacterias entéricas y *Staphylococcus saprophyticus* causan la mayor parte del resto de las infecciones vesicales con cultivos positivos en este grupo de pacientes. Algunas mujeres jóvenes con disuria aguda, sugestiva de cistitis, emiten urocultivos negativos para estas bacterias. En estos casos, se deben realizar cultivos específicos para *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*, además de considerar llevar a cabo una evaluación en busca de infección por herpes simple.

En las infecciones complicadas del tracto urinario superior, en presencia de anomalías anatómicas o cateterización crónica, el espectro de bacterias infecciosas es mucho más amplio que en los casos no complicados. Con gran frecuencia *E. coli* está presente, aunque otros bacilos gramnegativos de muchas especies (p. ej., *Klebsiella*, *Proteus* y enterobacter [capítulo 16] y pseudomonas [capítulo 17]), enterococos y *Staphylococcus* son agentes causales muy comunes. En muchos casos hay presencia de dos o más especies y las bacterias suelen ser resistentes a los antimicrobianos administrados en terapias previas.

La presencia de leucocitos en la orina es un dato altamente sugestivo, mas no específico, de infección bacteriana de las vías urinarias superiores. Se pueden identificar los leucocitos mediante examen microscópico del sedimento urinario o, indirectamente, por medio de tiras reactivas que detectan esterasa leucocitaria. La presencia de eritrocitos también se evidencia durante la microscopia del sedimento urinario o indirectamente mediante la detección de hemoglobina con tiras reactivas. La proteinuria también se puede detectar a través de estos reactivos. La presencia de bacterias en la tinción de Gram de orina no centrifugada es un dato altamente sugestivo de 10^5 o más bacterias por mililitro de orina.

La presencia de bacteriuria se confirma mediante un urocultivo cuantitativo a través de uno de los muchos métodos disponibles. Un método utilizado con mucha frecuencia es el urocultivo donde se emplea un asa bacteriológica calibrada para liberar 0.01 o 0.001 mL y a continuación realizar el conteo de colonias bacterianas.

La cistitis aguda no complicada generalmente es causada por *E. coli* susceptible a muchos de los antibióticos evaluados con anterioridad a diversas concentraciones en orina y que a menudo se emplean en los esquemas terapéuticos para infecciones de vías urinarias. Así, en presencia de este tipo de infección en una mujer joven, pocas veces es

necesaria la identificación definitiva y las pruebas de susceptibilidad de la bacteria. Algunos casos se pueden tratar mediante una dosis única del antibiótico apropiado, aunque los esquemas de tres días de terapia se relacionan con un índice menor de relapso. La pielonefritis se trata con 10 a 14 días de terapia antibiótica. Las infecciones recurrentes o complicadas del tracto superior se tratan mejor con antibióticos cuya efectividad está confirmada en contra de la bacteria causante de la infección; en estos casos se indican la identificación definitiva y las pruebas de susceptibilidad. El tratamiento durante cuatro días resulta adecuado para la mayoría de los casos de este tipo; en caso de recurrencia, entonces se recomienda un esquema de 14 a 21 días. Los pacientes con infecciones complicadas del tracto urinario superior deben someterse a una evaluación completa en búsqueda de complicaciones anatómicas, cálculos, etc.

Stamm WE, Hooton TM: Management of urinary tract infection in adults: N Engl J Med 1999;329:1328

HUESO Y TEJIDO BLANDO

CASO 10: OSTEOMIELITIS

Un hombre de 34 años de edad sufrió una fractura abierta del tercio medio de la tibia y fíbula al accidentarse cuando su automóvil motorizado de tres ruedas rodó por un campo y cayó encima de él. El paciente fue llevado a un hospital y casi inmediatamente a la sala de operaciones. La herida se lavó y debridó, así como también se redujo la fractura y se alineó el hueso. Se colocaron placas de metal para limitar la fractura, alinearla y mantenerla en su sitio. También se colocaron tornillos a través de la piel y el hueso en las regiones proximal y distal a la fractura, con el fin de entablar y inmovilizar la pierna. El día posterior a la cirugía, la pierna permaneció notablemente edematizada y en las vendas se observaba la salida de líquido seroso abundante. Dos días después, la pierna permaneció sin cambio, edematizada y roja, lo cual requirió la apertura de la herida quirúrgica. Los cultivos de pus de la herida revelaron la presencia de *Staphylococcus aureus* resistente a penicilina G, pero susceptible a nafcilina. El paciente fue tratado con nafcilina intravenosa durante 10 días, con lo cual disminuyó la tumefacción y el enrojecimiento. Tres semanas después, de nuevo comenzó a drenar pus a partir de una apertura muy pequeña de la herida. Los cultivos otra vez indicaron crecimiento de *S. aureus*. La exploración de la apertura evidenció la presencia de un tracto sinuoso al sitio de la fractura. Una radiografía de la pierna mostró la mala alineación de la fractura. El diagnóstico fue osteomielitis y de nuevo se intervino quirúrgicamente al paciente para debridar el sitio de la fractura que contenía tejido blando necrótico y hueso muerto; las placas y los tornillos se retiraron. Se colocaron injertos de hueso. La fractura se inmovilizó mediante una fijación externa. Los cultivos del material obtenido durante

la cirugía revelaron de nuevo *S. aureus*. El paciente se trató con nafcilina vía intravenosa durante un mes seguida de dicloxacilina oral por tres meses más. La herida y la fractura sanaron lentamente. Después de seis meses, ya no hubo evidencia radiológica de osteomielitis y el paciente fue capaz de soportar su peso en la pierna afectada.

Comentario

La osteomielitis se genera como consecuencia de la diseminación hematológica de bacterias patógenas a partir de un sitio distante a la infección hasta llegar al hueso o, como en este caso, debido a la inoculación directa del hueso y del tejido blando, como puede suceder con una fractura abierta o a partir de un sitio contiguo de la infección de los tejidos blandos. Los síntomas primarios son fiebre y dolor en el sitio de la infección; tumefacción, rubor y ocasionalmente se puede observar salida de material, aunque los datos de la exploración física dependen mucho de la localización anatómica de la infección. Por ejemplo, la osteomielitis de la columna vertebral se puede manifestar por medio de fiebre, dolor de espalda y signos de un absceso paravertebral; la infección de la cadera puede presentarse con fiebre con dolor durante el movimiento y disminución del ángulo de movimiento. En los niños, el inicio de la osteomielitis posterior a una diseminación hematológica de las bacterias puede ser muy súbito, en tanto que en los adultos la presentación puede ser más indolente. Algunas veces se considera que la osteomielitis es crónica o de larga evolución, aunque el espectro clínico de la osteomielitis es muy amplio, y la distinción entre un evento agudo y uno crónico puede no ser muy clara ya sea clínicamente o por medio del examen morfológico del tejido.

S. aureus (capítulo 14) es el agente causal principal de osteomielitis 60 a 70% de los casos (90% en niños). *S. aureus* produce infección después de la diseminación hematológica o de la inoculación directa. Los estreptococos causan osteomielitis en casi 10% de los casos, los enterobacilos gramnegativos (p. ej., *E. coli*) y otras bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* en 20 a 30%. Las bacterias anaerobias (p. ej., especies bacteroides) también son comunes, particularmente en la osteomielitis de huesos de los pies relacionada con diabetes y úlceras de pie. Cualquier bacteria que produce infecciones en humanos puede relacionarse con el desarrollo de osteomielitis.

El diagnóstico definitivo de la etiología de la osteomielitis requiere cultivo de una muestra obtenida durante la cirugía o mediante aspiración con aguja del hueso o del periostio a través del tejido blando no infectado. El cultivo de pus obtenida de la apertura de un tracto sinuoso tipo drenaje o de una herida superficial relacionada con la osteomielitis frecuentemente señala el crecimiento de bacterias que no se hallan en el hueso. Los hemocultivos suelen ser positivos cuando existen síntomas y signos sistémicos (fiebre, pérdida de peso, cuenta leucocitaria elevada, aumento de la velocidad de sedimentación globular).

Al inicio de la evolución de la osteomielitis, las placas de rayos X del sitio infectado suelen no revelar algún dato patológico. Los datos iniciales evidentes radiológicamente a menudo son tumefacción de tejidos blandos, pérdida de

los planos tisulares y desmineralización del hueso afectado; 2 a 3 semanas después del inicio, se pueden apreciar erosiones del hueso y periostitis. El análisis óseo con imagenología radionuclear son muy sensibles; son positivos a los pocos días del inicio del proceso infeccioso y son particularmente útiles para localizar el sitio de infección y determinar la existencia de sitios de infección adicionales: no obstante, los análisis óseos no diferencian entre fracturas, infarto óseo (como sucede en la anemia falciforme) e infección. La tomografía computarizada y la resonancia magnética también son sensibles y poseen especial utilidad para determinar la extensión del compromiso del tejido blando.

La terapia antimicrobiana y la debridación quirúrgica son los pilares del tratamiento de la osteomielitis. Se debe seleccionar el antimicrobiano específico con base en los resultados del cultivo de una muestra obtenida correctamente y en las pruebas de susceptibilidad; la terapia se debe continuar durante 6 a 8 semanas o más, dependiendo de la infección. La cirugía se debe llevar a cabo con el propósito de retirar toda porción de hueso muerto, detritos y material secuestrado que estén presentes. La inmovilización de las extremidades infectadas y la fijación de las fracturas son aspectos importantes del cuidado.

Lew DP, Waldvogel FA: Osteomyelitis. N Engl J Med 1997;336:999.

CASO 11: GANGRENA GASEOSA

Un hombre de 22 años de edad se cayó mientras conducía una motocicleta nueva, sufriendo una fractura abierta del fémur izquierdo con laceraciones graves y trauma por aplastamiento del muslo, así como lesiones menos extensas de tejidos blandos en otras partes del cuerpo. Rápidamente se le transportó al hospital y de inmediato se le llevó a la sala de operaciones, donde la fractura se redujo y se debridaron las heridas. Al ingreso, los resultados de la biometría hematológica del paciente fueron un hematocrito de 45% y una hemoglobina de 15 g/dL. La evolución postoperatoria no presentó complicaciones, pero 24 h después de la cirugía el paciente comenzó a presentar dolor en el muslo; se detectó fiebre, el dolor y la tumefacción del muslo se incrementaron velozmente.

Datos clínicos y evolución

La temperatura fue de 40 °C, la frecuencia cardíaca de 150/min, la frecuencia respiratoria de 28/min y la tensión arterial de 80/40 mm Hg.

La exploración física identificó un hombre joven con evidencia de enfermedad aguda, que se encontraba en choque y delirante. El muslo izquierdo se encontró notablemente edematizado y frío al tacto. Cerca de la herida se observaban grandes áreas equimóticas y la herida descargaba líquido seroso. A la palpación se detectó crepitación, indicativa de presencia de gas en el tejido del muslo. Una radiografía demostró la presencia de gas en los planos tis-

lares del muslo. El diagnóstico fue gangrena gaseosa, por lo que el paciente se trasladó de nuevo a la sala de operaciones para la debridación extensa y urgente del tejido necrótico. Al momento de la cirugía, el hematocrito cayó hasta 27% y la hemoglobina a 11 g/dL; el suero era de color café rojizo, lo cual indicaba hemólisis y circulación de hemoglobina libre en la sangre. Los cultivos anaeróbicos de la muestra obtenida durante la cirugía mostraron crecimiento de *Clostridium perfringens*. El paciente desarrolló insuficiencia renal e insuficiencia cardíaca y murió tres días después del accidente.

Comentario

El caso 11 ilustra un caso clásico de gangrena gaseosa causada por clostridia. *C. perfringens* (u ocasionalmente otra especie clostridium) se inoculan dentro de la herida traumática provenientes del medio ambiente; las clostridia se estudiaron en el capítulo 12. La presencia de tejido necrótico y material de cuerpo extraño brinda un medio anaeróbico propicio para la multiplicación de los microorganismos. Después de un periodo de incubación que generalmente es de 2 a 3 días, aunque a veces es sólo de 8 a 12 h, se presenta el inicio agudo del dolor, el cual rápidamente aumenta de intensidad relacionada con choque y delirio. La extremidad o la herida se encuentra hipersensible, con tumefacción tensa y secreción serohemática: la crepitación es un signo que a menudo se observa. La piel cercana a la herida se encuentra pálida, pero muy pronto se torna descolorida, y además hay formación de ampullas llenas de líquido en la piel circundante. Posteriormente aparecen zonas de piel con necrosis negra. En los casos más graves, la evolución es muy rápida.

En pacientes como el de este caso, la tinción de Gram del líquido extraído de un ampulla o de un aspirado tisular muestra la presencia de grandes bacilos grampositivos con extremos achatados, lo cual es un dato altamente sugestivo de infección por clostridia. El cultivo anaeróbico brinda la confirmación definitiva mediante laboratorio. El diagnóstico diferencial de la gangrena gaseosa por clostridia incluye la mionecrosis estreptocócica anaeróbica, mionecrosis necrosante sinérgica y fascitis necrosante. Estas entidades clínicas, generalmente ocultas o traslapadas, se pueden diferenciar de la gangrena gaseosa clostrídica mediante tinción de Gram y cultivos de las muestras obtenidas correctamente.

Las placas de rayos X del sitio infectado muestran gas en los planos de la fascia. Las pruebas de laboratorio incluyen hematocrito, que suele encontrarse bajo; la hemoglobina puede estar baja o normal, aun cuando el hematocrito es bajo, lo cual corresponde a un estado de hemólisis con hemoglobina libre circulante en la sangre. Por lo general hay leucocitosis.

La cirugía extensa con remoción de todo el tejido muerto e infectado es necesaria para conservar la vida del paciente. La penicilina G es el antibiótico de elección. La antitoxina carece de utilidad. Cuando existe un estado de choque y hemoglobina libre circulante, son comunes complicaciones como insuficiencia renal y otras, y el pronóstico es malo.

ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL

CASO 12: URETRITIS, ENDOCERVICITIS Y ENFERMEDAD INFLAMATORIA PÉLVICA

Una mujer de 19 años de edad acudió a la clínica debido a la presencia de dolor abdominal bajo de dos días de evolución y secreción vaginal amarillenta por primera vez evidente unos días antes de su último periodo menstrual. La paciente refirió haber tenido dos parejas sexuales en el mes previo, incluyendo una pareja nueva 10 días antes de la presentación del problema.

Datos clínicos

La temperatura fue de 37.5 °C; el resto de los signos vitales fue normal. La exploración física detectó una secreción cervical amarillenta mucopurulenta. Había dolor moderado en el abdomen inferior izquierdo. El examen pélvico bimanual indicó dolor a la movilización cervical e hipersensibilidad de anexos, más grave en el lado izquierdo que en el derecho.

Datos de laboratorio

El cultivo de la secreción de endocervix resultó negativo para *Neisseria gonorrhoeae*; pero fue positivo para *Chlamydia trachomatis*.

Tratamiento

El diagnóstico establecido fue enfermedad inflamatoria pélvica. La paciente se trató de manera ambulatoria con una dosis única de ceftriaxona más doxiciclina durante dos semanas. Ambas parejas sexuales también acudieron a la clínica y se sometieron a tratamiento.

Comentario

En los hombres, la descarga uretral se clasifica como uretritis gonocócica, cuando es causada por *Neisseria gonorrhoeae*; o uretritis no gonocócica, casi siempre producida por *Chlamydia trachomatis* (25 a 55% de los casos) o *Ureaplasma urealyticum* (20 a 40% de los casos), y menos frecuentemente por *Trichomonas vaginalis*. El diagnóstico se basa en la presencia o ausencia de diplococos intracelulares gramnegativos identificados durante la tinción de la secreción uretral. Los cultivos de la secreción generalmente no son necesarios para establecer el diagnóstico. Comúnmente se utiliza ceftriaxona para tratar la uretritis gonocócica, aunque se encuentran disponibles muchas otras agentes alternativos que también son efectivos. La doxiciclina se emplea para tratar la uretritis no gonocócica. Es muy recomendable que aquellos hombres con infección gonocócica también se sometan a tratamiento para *Chlamydia* debido a la alta probabilidad de coinfección por ambos gérmenes.

En las mujeres, el diagnóstico diferencial de **endocervicitis (cervicitis mucopurulenta)** se realiza entre gonorrea e infección por *Chlamydia trachomatis*. El diagnóstico definitivo se establece mediante cultivo de la secreción endocervical en búsqueda específicamente de *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*. Existen tres opciones terapéuticas principales: 1) tratar tanto a *N. gonorrhoeae* como a *C. trachomatis* antes de contar con los resultados del cultivo; 2) tratar únicamente a *C. trachomatis*, si la prevalencia de *N. gonorrhoeae* es baja, pero la probabilidad de infección clamídica es alta; o 3) esperar hasta disponer del resultado del cultivo si la prevalencia de ambas enfermedades es baja y la posibilidad de que la paciente se apegue al tratamiento y regrese a consulta es alta.

La **enfermedad pélvica inflamatoria (EPI)**, también llamada **salpingitis**, es una inflamación del útero, de las tubas uterinas y de los anexos, no relacionada con cirugía o embarazo. La EPI es la consecuencia principal de la presencia endocervical de *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*; alrededor de la mitad de los casos de EPI son causados por alguno o ambos gérmenes. La incidencia de EPI gonocócica es muy alta en poblaciones de ciudades modernas, en tanto que la EPI clamídica es más común en estudiantes universitarias y en poblaciones más afluentes. Otras causas bacterianas comunes de EPI son microorganismos entéricos y bacterias anaeróbicas relacionados con vaginosis bacteriana. El dolor abdominal bajo es el síntoma de presentación más común; también son frecuentes síntomas como secreción vaginal anormal, sangrado uterino, disuria, dispareunia, náuseas y vómito, y fiebre. La complicación principal de EPI es esterilidad secundaria a oclusión de las tubas uterinas. Se estima que 8% de las mujeres se vuelven estériles después de un episodio de EPI. 19.5% después de dos episodios y 40% después de 3 o más episodios de EPI. El diagnóstico clínico de EPI se debe considerar en toda mujer en edad reproductiva con dolor pélvico. Estas pacientes muy a menudo presentan datos físicos clásicos además de los signos y síntomas de presentación, incluyendo dolor abdominal bajo, dolor a la movilización cervical e hipersensibilidad de anexos. El diagnóstico clínico se puede confirmar mediante la visualización laparoscópica del útero y de las tubas uterinas, aunque este procedimiento no es muy práctico y pocas veces se lleva a cabo; no obstante, sólo dos terceras partes aproximadamente de las mujeres con diagnóstico clínico presuntivo de EPI presenta la enfermedad al momento de realizar la visualización de útero y trompas de Falopio. El diagnóstico diferencial se debe hacer con embarazo ectópico y apendicitis, así como con otras enfermedades. En las pacientes con EPI se suele recomendar la hospitalización para la administración intravenosa de antimicrobianos y así disminuir el riesgo de esterilidad. Los esquemas terapéuticos intrahospitalarios incluyen a cefoxitina y doxiciclina o gentamicina y clindamicina. Los esquemas ambulatorios incluyen cefoxitina o ceftriaxona en dosis única más doxiciclina o, bien, ofloxacina más clindamicina.

McCormack WM: Pelvic inflammatory disease. N Engl J Med 1994;330:115.

Ross JD: An update on pelvic inflammatory disease. Sex Transm Infect 2002;78:18.

CASO 13: VAGINOSIS Y VAGINITIS

Una mujer de 28 años se presentó a la clínica a causa de una secreción vaginal blanca-grisácea con olor fétido, por primera vez detectada seis días previos a la consulta. La paciente tenía una vida sexual activa con una sola pareja nueva para ella, a la cual había conocido un mes antes.

Datos clínicos

Durante la exploración física se encontró una secreción vaginal, homogénea, gris blancuzca, que se adhería a la pared vaginal. No se identificó secreción proveniente de los orificios cervicales. El examen pélvico bimanual fue normal, así como el resto de la exploración física.

Datos de laboratorio

El pH del líquido vaginal fue de 5.5 (normal, < 4.5). Cuando se adicionó KOH al líquido vaginal sobre una laminilla, se percibió un olor a amina (a "pescado"). El examen en fresco del líquido demostró la presencia de muchas células epiteliales con bacterias adherentes (células pista). No se observaron células polimorfonucleares. El diagnóstico fue vaginosis bacteriana.

Tratamiento

La terapia con metronidazol dos veces al día durante siete días resultó en la desaparición rápida del problema. Se decidió no tratar a la pareja sexual masculina de la paciente, a menos que ella presentara recurrencia de la vaginosis.

Comentario

La vaginosis bacteriana se debe diferenciar de la secreción vaginal normal y de la vulvovaginitis causada por *Trichomonas vaginalis* y *Candida albicans* (cuadro 48-5). Estas enfermedades son muy comunes, ya que se presentan en una quinta parte de las mujeres que acuden a consulta ginecológica. La mayoría de las mujeres padecen durante toda su vida reproductiva al menos un episodio de vaginitis o vaginosis.

La vaginosis bacteriana se llama así debido a la ausencia de células polimorfonucleares; es decir, no es un proceso inflamatorio. En combinación con infección por *Gardnerella vaginalis*, los lactobacilos que forman parte de la flora vaginal normal disminuyen en cantidad, mientras que el pH se eleva. De manera concomitante, existe una sobreproducción de *G. vaginalis* y de las bacterias anaeróbicas vaginales, lo cual produce una secreción con el olor típico a aminas. Además de *G. vaginalis*, bacilos gramnegativos curvados del género *Mobiluncus* se han relacionado con vaginosis bacteriana. Estas bacterias curvadas se pueden identificar a través de la tinción de Gram de la secreción vaginal.

Cuadro 48-5. Vaginitis y vaginosis bacteriana

	Normal	Vaginosis bacteriana	Vaginitis por <i>Trichomonas vaginalis</i>	Vulvovaginitis por <i>Candida albicans</i>
Síntoma principal	Ninguno	Flujo, maloliente, puede haber prurito	Flujo, maloliente, puede haber prurito	Flujo; prurito y sensación de quemadura de la piel vulvar
Flujo vaginal	Ligero, blanco, adherente	Aumentado, delgado, homogéneo, blanco, gris, adherente	Aumentado, amarillo, verde, espeso, adherente; con frecuencia se presentan Petequias en el cuello de útero	Aumentado, blanco, granuloso como queso cottage
pH	< 4.5	> 4.5	> 4.5	≤ 4.5
Olor	Ninguno	Común, a pescado	Puede presentarse, a pescado	Ninguno
Microscopia	Células epiteliales con lactobacilos	Células indicadoras con bacilos adherentes; ausencia de PMN	Tricomonas motiles; abundantes PMN	La preparación con KOH demuestra las levaduras en gemación y las pseudohifas
Tratamiento	Ninguno	Metronidazol	Metronidazol	Azoles antimicóticos tópicos

Trichomonas vaginalis es un protozooario flagelado. La vaginitis causada por este microorganismo se diagnostica mejor mediante el examen del líquido en fresco, el cual identifica a las tricomonadas libres que son sólo un poco más grandes que las células polimorfonucleares. Debido a que las tricomonadas pierden su movilidad cuando se exponen al frío, es mejor emplear solución salina, portaobjetos y cubreobjetos tibios (37 °C) para elaborar las preparaciones en fresco, así como también se recomienda examinar inmediatamente las preparaciones.

La vulvovaginitis candidiásica suele aparecer después del empleo de una terapia antibiótica contra una infección bacteriana. Los antibióticos disminuyen la flora genital normal, permitiendo así la proliferación de levaduras y la generación de síntomas. Así, la vulvovaginitis candidiásica en realidad no es una enfermedad de transmisión sexual.

Sobel JD: N Engl J Med 1997;337:1896.

CASO 14: ÚLCERAS GENITALES

Un hombre de 21 años de edad se presentó a la clínica refiriendo como molestia principal la presencia de una úlcera en el pene. La lesión comenzó como una pápula tres semanas previas a la consulta y que lentamente progresó hasta formar la úlcera. La úlcera era indolora y el paciente no había notado la presencia de pus o secreción en la úlcera.

El paciente ya había sido tratado con anterioridad debido a una enfermedad transmitida sexualmente y se tenía la sospecha de que solía traficar drogas a cambio de sexo.

Datos clínicos

La temperatura del paciente fue de 37 °C, la frecuencia cardíaca de 80/min, la frecuencia respiratoria de 16/min y la tensión arterial de 110/80 mm Hg. Se examinó una úlcera de 1 cm de diámetro localizada en el lado izquierdo del cuerpo del pene. La úlcera tenía una base limpia con bordes elevados e indurados moderadamente. A la palpación el paciente refirió ligero dolor. Se palparon ganglios linfáticos inguinales del lado izquierdo de 1 a 1.5 cm de diámetro.

Datos de laboratorio

La lesión peneana se lavó con cuidado utilizando solución salina y gases. Una pequeña cantidad del exudado claro se obtuvo de la base de la lesión, se extendió sobre una lamina y se examinó bajo microscopio de campo oscuro. Se identificaron múltiples espiroquetas. La prueba serológica de detección RPR (reagina plasmática rápida) resultó positiva para sífilis a una dilución de 1:8. La prueba confirmatoria FTA-ABS (anticuerpos treponémicos fluorescentes absorbidos) también resultó positiva.

Tratamiento y seguimiento

El paciente se trató con una dosis única de penicilina benzatínica. Seis meses después, la prueba de RPR revirtió resultando negativa, aunque la prueba FTA ABS se esperaba

que permaneciera positiva por el resto de la vida del paciente.

El paciente buscó a cinco de sus parejas sexuales femeninas con las que había tenido contacto un mes antes de la consulta inicial. Tres de estas mujeres fueron localizadas por investigadores del departamento de salud pública y se sometieron a tratamiento. Las dos mujeres que no se localizaron se habían mudado a domicilios desconocidos en otras ciudades.

Comentario

Las tres enfermedades principales que presentan úlceras genitales son sífilis, herpes genital y chancroide (cuadro 48-6).

Dos enfermedades mucho menos comunes que generan úlceras genitales son la lesión inicial del linfogranuloma venéreo, causado por *Chlamydia trachomatis*; y el granuloma inguinal (donovanosis), una entidad muy rara, causada por *Calymmatobacterium granulomatis*. El linfogranuloma venéreo es una enfermedad sistémica que cursa con fiebre, mal estado general y linfadenopatía; pueden estar presentes bubones inguinales. El diagnóstico generalmente se establece mediante pruebas serológicas, aunque

el cultivo de la pus aspirada de un bubón inguinal puede evidenciar la presencia de *C. trachomatis*.

INFECCIONES POR MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

CASO 15: TUBERCULOSIS PULMONAR

Un hombre de 64 años de edad ingresó al hospital con antecedentes de debilidad progresiva de cinco meses de evolución y pérdida de peso de 13 kg. También refirió fiebre, temblores y tos productiva crónica con esputo amarillento, ocasionalmente salpicado con sangre.

El paciente era bebedor de grandes cantidades de alcohol y vivía en una casa de huéspedes situada justo al lado de la taberna que solía frecuentar. También tenía antecedentes de tabaquismo y fumaba una cajetilla de cigarrillos diariamente durante los últimos 45 años.

Cuadro 48-6. Las principales enfermedades con úlceras de los genitales: sífilis, herpes y chancroide^{1,2}

	Sífilis primaria	Herpes genital (lesiones iniciales)	Chancroide
Agente causal	<i>Treponema pallidum</i>	Virus del herpes simple	<i>Haemophilus ducreyi</i>
Periodo de incubación	Tres semanas (10 a 90 días)	2 a 7 días	3 a 5 días
Presentación clínica común	Pápula algo sensible la cual se ulcera en el transcurso de una a varias semanas	Dolor notable en la región genital; pápulas que se ulceran en 3 a 6 días; son comunes fiebre, cefalea, malestar y adenopatía inguinal	Pápula sensible la cual se ulcera en 24 h
Pruebas diagnósticas	Examen al microscopio en campo oscuro de los exudados provenientes del chancro; pruebas serológicas	El cultivo del virus a partir de las células y del líquido proveniente de la base de las vesículas; el cultivo resulta positivo en 18 a 48 h; tinción con anticuerpos fluorescentes de las mismas muestras	Cultivo e incubación a 33 °C del <i>H. ducreyi</i> en al menos dos clases de medio enriquecido que contenga vancomicina
Secuelas a largo plazo	Sífilis secundaria con lesiones mucocutáneas; sífilis terciaria	Herpes genital recidivante	Bubón inguinal
Tratamiento	Penicilina G benzatínica; doxiciclina en caso de alergia a la penicilina	Aciclovir	Ceftriaxona o azitromicina, o eritromicina, o ciprofloxacina

¹ Normas de tratamiento para enfermedades de transmisión sexual. MMWR Morb Morta Wkly Rep 2002;51:1.

² Workowski KA, Berman SM. CDC sexually transmitted diseases treatment guidelines. Clin Infect Dis 2002;35 (Suppl 2): S135.

El paciente no refirió antecedentes de tuberculosis, ni tampoco contaba con el registro de pruebas cutáneas practicadas previamente para detección de tuberculosis, ni con radiografías de tórax. El paciente negó conocer antecedentes de exposición a tuberculosis.

Datos clínicos

Se registró una temperatura de 39 °C, frecuencia cardíaca de 110/min, frecuencia respiratoria de 32/min y tensión arterial de 120/80 mm Hg. El paciente era un hombre delgado con una mala dentición, aunque el resto de la exploración de cabeza y cuello fue normal. En la exploración del tórax se auscultaron muchas crepitancias en los campos pulmonares superiores. El resto de la exploración física fue normal.

Datos de laboratorio e imagenología

El hematocrito fue de 30% (bajo) y la cuenta leucocitaria de 9 600/ μ L. Las concentraciones de electrolitos y otras pruebas sanguíneas se encontraron normales. La prueba para detección de anticuerpos contra VIH-1 resultó negativa. La radiografía de tórax reveló la presencia de extensos infiltrados cavitarios en ambos lóbulos superiores. La prueba cutánea de tuberculina resultó negativa, así como las pruebas cutáneas con antígenos del virus de la parotiditis y de cándida, lo cual indicó anergia.

Inmediatamente se obtuvo una muestra de esputo para realizar la tinción de ácido-fijación antes del procedimiento de concentración del esputo. Se identificaron numerosas bacterias fijadoras de ácido (ácido alcohol resistentes) en el frotis. El cultivo de esputo descontaminado y de esputo concentrado resultó positivo para bacterias fijadoras de ácido (ácido alcohol resistentes) después de una incubación de 14 días; dos días después se identificó a *Mycobacterium tuberculosis* mediante sondas moleculares. Los antibiogramas mostraron susceptibilidad a isoniácida, rifampicina, pirazinamida, etambutol y estreptomina.

Evolución intrahospitalaria y tratamiento

El paciente se trató con isoniácida, rifampicina, pirazinamida y estreptomina durante dos semanas, seguidas de la administración de dos veces por semana bajo vigilancia directa de los mismos fármacos durante seis semanas, seguida de la administración de dos veces por semana de isoniácida y rifampicina durante 16 semanas también bajo vigilancia directa. El seguimiento del paciente a través de cultivos de esputo resultaron finalmente negativos para *M. tuberculosis*.

Durante la hospitalización, el paciente se mantuvo en aislamiento y se le indicó la utilización de un cubrebocas todo el tiempo; no obstante, antes de implementar las medidas de aislamiento y uso de cubrebocas, un estudiante de medicina y un médico residente tuvieron contacto con el paciente. El médico residente presentó una prueba cutánea de tuberculina positiva, por lo que se sometió a tratamiento con isoniácida durante 12 meses como profilaxis.

Se intentó localizar y dar seguimiento a todos los contactos cercanos del paciente; un total de 34 personas se detectaron con pruebas de tuberculina positiva. A las personas de 35 años de edad o más jóvenes se les inició profilaxis con isoniácida durante 1 año; aquellas mayores de 35 años se sometieron a seguimiento radiológico del tórax. Se diagnosticaron y trataron dos casos adicionales de tuberculosis activa. Los aislados de *M. tuberculosis* de estos dos pacientes resultaron idénticos al aislado del caso índice (el paciente descrito en el caso) mediante la identificación dactiloscópica del DNA.

CASO 16: TUBERCULOSIS MILIAR DISEMINADA

Una mujer asiática de 31 años de edad ingresó al hospital a causa de mal estado general, mialgia, tos no productiva y dificultad para respirar de siete semanas de evolución. La paciente refirió que diariamente presentaba fiebre de 38 a 39 °C y recientemente había perdido 5 kg de peso. Se le había administrado un tratamiento con una cefalosporina vía oral sin beneficio alguno.

La historia clínica reveló que la paciente había emigrado de Filipinas a los 24 años de edad, y en ese entonces la radiografía de tórax no mostró datos patológicos. La abuela de la paciente había fallecido a causa de tuberculosis durante la infancia de la segunda, por lo que la paciente no sabía exactamente si había tenido contacto con su abuela. De niña sí se le había administrado la vacuna BCG. Actualmente la paciente vivía con unos familiares quienes trabajaban en una casa de huéspedes donde se atendía alrededor de 30 personas ancianas.

Datos clínicos

La temperatura registrada fue de 39 °C, frecuencia cardíaca de 100/min, frecuencia respiratoria de 20/min y tensión arterial de 120/80 mm Hg. La exploración física fue completamente normal. El examinador no pudo palpar el bazo de la paciente; el hígado se encontró de tamaño normal a la percusión, y no se palpaban linfadenopatías.

Datos de laboratorio e imagenología

La hemoglobina fue de 8.3 g/dL (normal 12 a 15.5 g/dL) y el hematocrito de 27% (normal 36 a 46%). En el frotis de sangre periférica se identificaron eritrocitos hipocrómicos microcíticos compatibles con una infección crónica o anemia ferropénica. La cuenta plaquetaria fue de 50 000/ μ L (normal 140 000 a 450 000/ μ L). La cuenta leucocitaria fue de 7 000/ μ L (normal), con una cuenta diferencial también normal. El tiempo de protrombina se encontró moderadamente prolongado y el tiempo parcial de tromboplastina ligeramente prolongado, datos sugestivos de una coagulopatía de origen hepático. Las pruebas de función hepática se encontraron así: aspartato aminotransferasa (AST) de 140 unidades/L (normal 10 a 40 unidades/L), alanina amino-

transferasa (ALT) de 105 unidades/L (normal 5 a 35 unidades/L), bilirrubina de 2 mg/dL (elevada al doble de lo normal), fosfatasa alcalina de 100 unidades/L (normal 36 a 122/L). La albúmina sérica fue de 1.7 g/dL (baja; normal 3.4 a 5 g/dL). Los resultados de creatinina, nitrógeno ureico sanguíneo y electrolitos séricos fueron normales. El examen general de orina mostró unos cuantos eritrocitos y algunos leucocitos. Los dos hemocultivos de rutina resultaron negativos. En los cultivos de esputo y orina crecieron cantidades pequeñas de flora normal.

Las pruebas serológicas para VIH-1, anticuerpos y antígenos para virus de la hepatitis B, para coxielidomocosis, leptospirosis, brucelosis, infección por micoplasma, enfermedad de Lyme y fiebre Q, todas resultaron negativas. La prueba cutánea de tuberculina fue negativa, así como las pruebas cutáneas antígenos de paratuberculosis y cándida, lo cual indicó anergia.

La radiografía de tórax no mostró datos patológicos. Las radiografías del tracto gastrointestinal superior y del enema con bario fueron negativas. El análisis tomográfico del abdomen tampoco reveló algún dato anómalo.

Evolución intrahospitalaria y tratamiento

Durante los primeros días de la hospitalización, el paciente presentó un incremento progresivo de la respiración entrecortada y del distrés respiratorio. Las radiografías de tórax repetidas mostraron la presencia de infiltrados intersticiales bilaterales. El diagnóstico establecido fue síndrome de distrés respiratorio del adulto. Ahora la hemoglobina se encontraba en 10.9 g/dL y la cuenta leucocitaria bajó a 4 900/ μ L. La gasometría arterial mostró un pH de 7.38, una PO_2 de 50 mm Hg (baja) y una PCO_2 de 32 mm Hg. Se inició la oxigenoterapia y se requirió la intubación de la paciente (durante cuatro días). Se realizó un lavado broncoalveolar; el cultivo del líquido obtenido resultó negativo al igual que la tinción de ácido-fijación. El segundo análisis tomográfico del abdomen encontró un hígado de aspecto normal, pero identificó linfadenopatía periaórtica y una esplenomegalia leve. La paciente se sometió a laparoscopia con toma de biopsia hepática y de médula ósea.

Las biopsias de hígado y médula ósea revelaron la presencia de granulomas con células gigantes; bacilos fijadores de ácido (ácido-alcohol resistentes-BAAR). (Se identificaron depósitos de hierro muy abundantes, lo cual indicaba que la anemia se debía a una infección crónica y no a deficiencia de hierro). La paciente comenzó la terapia con isoniácida, rifampicina, pirazinamida y etambutol. Las radiografías de tórax continuaron mostrando los infiltrados difusos, pero la mejoría era evidente. Las fiebres disminuyeron y la paciente mostró una mejoría general.

Entre los días 19 y 21 de incubación, las biopsias de hígado y médula ósea y el lavado de líquido resultaron positivas en el cultivo de bacilos fijadores de ácidos (ácido-alcohol resistentes), y se identificó a *Mycobacterium tuberculosis* mediante sondas moleculares. La *mycobacteria* resultó susceptible a todos los fármacos que la paciente ya recibía. El régimen de cuatro fármacos se continuó durante dos meses hasta que las pruebas de susceptibilidad se repitieron. La paciente continuó la terapia con isoniácida y

rifampicina durante 10 meses más hasta completar un tratamiento global de un año.

Los familiares de la paciente y los ancianos con quienes convivía se sometieron a pruebas cutáneas para detección de tuberculosis: las personas con pruebas positivas y aquellas anérgicas o con antecedentes de tos o pérdida de peso reciente también se sometieron a estudios radiológicos del tórax. Se identificaron tres personas tuberculinas positivas; ningún tenía tuberculosis activa. Estas tres personas tenían más de 35 años de edad, por lo que no se les administró isoniácida como profilaxis debido a los efectos colaterales potenciales del fármaco en personas en este grupo de edad.

Se cree que la paciente presentó una reactivación de la tuberculosis con diseminación hematogénica hacia pulmones, hígado, ganglios linfáticos y posiblemente riñones.

Comentario

Se estima que en todo el mundo existen 1.5 mil millones de personas, o aproximadamente una tercera parte de la población mundial, tienen tuberculosis y que cada año alrededor de 3 millones de personas mueren a causa de esta enfermedad. En Estados Unidos, a mediados de la década de 1980 se observó una incidencia baja de tuberculosis de 9.4 casos por 100 000 habitantes; esta tasa se incrementó ligeramente a finales de esa misma década, pero desde 1992 las tasas descendieron de nuevo. La tasa más baja (y la registrada más recientemente) fue de 5.6 casos por 100 000 habitantes (15 989 casos) en 2001. La tuberculosis en EUA se presenta más comúnmente en poblaciones de estratos socioeconómicos muy bajos: mendigos, personas sin hogar, granjeros emigrantes, alcohólicos, usuarios de drogas intravenosas. Alrededor de la mitad de los casos de tuberculosis ocurre en individuos nacidos en el extranjero. La incidencia de tuberculosis puede llegar a ser muy alta en grupos selectos y áreas geográficas particulares (p. ej., usuarios de drogas intravenosas VIH-positivos del este de Estados Unidos, pacientes haitianos con SIDA). La tuberculosis en ancianos generalmente se debe a la reactivación de una infección previa, mientras que en los niños implica una transmisión activa de *M. tuberculosis*. Alrededor de 80% de los casos de niños se presenta en minorías étnicas; sin embargo, la tuberculosis activa se diagnostica más frecuentemente en adultos jóvenes, a menudo relacionada con infección por VIH-1. Las infecciones concomitantes de tuberculosis y VIH-1 son especialmente relevantes en países en vías de desarrollo; en África, millones de personas padecen ambas infecciones. En Rusia, la mayor preocupación es respecto a la diseminación de tuberculosis resistente a múltiples fármacos.

La transmisión de la tuberculosis de un paciente a otro se lleva a cabo a través de pequeñas gotitas infecciosas que contienen al microorganismo y que se generan durante la tos, estornudos o al hablar. Los factores principales para la transmisión de la infección son la cercanía y la duración del contacto con la persona infectada, así como la capacidad infecciosa de ésta. Generalmente, < 50% de los contactos de casos activos se infectan, de acuerdo con la medición de la conversión de las pruebas cutáneas de tuberculina de negativas a positivas. Los pacientes por lo general se vuelven

no infecciosos dos semanas después de iniciar la terapia. Una vez infectadas, 3 a 4% de las personas desarrollan tuberculosis activa en el primer año y alrededor de 10% un poco después de este lapso de tiempo. Las edades cuando la infección tiende más a producir una enfermedad activa es durante la edad preescolar, a los 15 a 25 años y en la etapa senil.

La prueba cutánea de tuberculina se realiza mediante la inyección intradérmica de 5 unidades de tuberculina (UT) del derivado proteico purificado (PPD, del inglés *purified protein derivative*) utilizando una aguja calibre 26 o 27. La reacción se lee a las 48 a 72 h. Se considera positiva una reacción donde hay formación de una pápula indurada de 10 mm o más de diámetro: el eritema solo no se toma en cuenta para determinar una prueba como positiva. De las personas que desarrollan la induración de 10 mm, 90% padece infección por *M. tuberculosis*, en tanto que casi todas las personas que muestran una induración de 15 mm se encuentran infectadas. Las pruebas con resultados falsos positivos se deben a infecciones con mycobacterias no tuberculosas (p. ej., *Mycobacterium kansasii*); los resultados falsos negativos se deben a la presencia de una enfermedad generalizada en pacientes con tuberculosis o debido a inmunosupresión. En estos últimos casos se deben realizar pruebas cutáneas adicionales con antígenos cándida o paratuberculosis, para los cuales reacciona la mayoría de las personas inmunológicamente normales, y así determinar si el paciente se encuentra en un estado de anergia.

La infección primaria por *M. tuberculosis* en niños incluye la evidencia de infiltrados de los lóbulos pulmonares medio o inferior y linfadenopatía hilar en las placas de rayos X de tórax. Los adolescentes y adultos pueden presentar un cuadro similar en caso de infección primaria, aunque la infección suele progresar muy rápidamente a una enfermedad cavitaria apical. En los ancianos, la tuberculosis se puede presentar de manera inespecífica como una neumonía del lóbulo inferior. Cuando existe enfermedad cavitaria apical, es un dato altamente sugestivo de tuberculosis (el diagnóstico diferencial incluye histoplasmosis), aunque la tuberculosis puede simular a muchas otras enfermedades cuando otras regiones de los pulmones diferentes a los ápices se encuentran afectadas. La tuberculosis pulmonar crónica se puede deber a la reactivación de la infección endógena o a una reinfección exógena.

La tuberculosis extrapulmonar se presenta en menos de 20% de los casos, es más común en pacientes con SIDA y puede llegar muy seria e incluso poner en peligro inminente la vida del paciente. El método de diseminación más común es la vía hematogénica durante la infección primaria o, menos comúnmente, a partir de focos pulmonares crónicos o con otra localización. Puede suscitarse la extensión directa de la infección hacia los espacios pleural, pericárdico o peritoneal, así como también puede haber autoinoculación en el tracto gastrointestinal cuando el paciente traga sus propias secreciones infectadas. En pacientes con SIDA, a diferencia de otros pacientes, es común las enfermedades pulmonar y extrapulmonar concurrentes. Las formas extrapulmonares principales de tuberculosis —en orden descendiente de frecuencia— son como sigue: linfática, pleural, genitourinaria, ósea y articular, diseminada (miliar), meníngea y peritoneal. Sin embargo, cualquier órgano

puede afectarse por *M. tuberculosis*; por lo que la tuberculosis se debe considerar en el diagnóstico diferencial de muchas otras enfermedades.

Los dos fármacos antituberculosos principalmente utilizados son isoniacida y rifampicina. Los otros fármacos de primera línea son pirazinamida, etambutol y estreptomina. Existen muchos fármacos de segunda línea que son aun más tóxicos o menos efectivos, o ambas condiciones, y sólo se deben emplear como terapia en circunstancias donde su uso se encuentre plenamente justificado y garantizado (p. ej., tratamiento en caso de fracaso con los fármacos estándares, resistencia a múltiples fármacos). Los esquemas terapéuticos estándar de nueve meses se basan en isoniacida y rifampicina administradas diariamente; pirazinamida, etambutol o estreptomina generalmente se administran de manera concomitante hasta disponer de los resultados de las pruebas de susceptibilidad. Isoniacida y rifampicina se pueden administrar diariamente durante uno a dos meses y dos veces por semana durante el periodo restante hasta completar los nueve meses de tratamiento; aunque este régimen no se debe utilizar si hay probabilidades de resistencia farmacológica. Existen muchos esquemas de seis meses como tratamiento inicial de la tuberculosis y que generalmente consisten en regímenes con tres o cuatro fármacos administrados durante dos meses seguidos por isoniacida y rifampicina dos veces por semana hasta completar los seis meses de tratamiento. La susceptibilidad o resistencia a isoniacida y rifampicina son factores importantes para la selección de los fármacos apropiados y para establecer la duración del tratamiento. En pacientes que no colaboran y no muestran apego al tratamiento, es importante implantar una terapia con vigilancia directa.

Jasmer RM, Nahid P, Hopewell PC: Latent tuberculosis infection. *N Engl J Med* 2002;347:1960.

Khan K et al.: Global drug-resistance patterns and the management of latent tuberculosis infection in immigrants to the United States. *N Engl J Med* 2002;347:1850.

VIH-1 Y SIDA

CASO 17: INFECCIÓN DISEMINADA POR EL COMPLEJO MYCOBACTERIUM AVIUM (CMA)

Un hombre de 44 años de edad se presentó con antecedentes de fiebre intermitente de varias semanas de evolución acompañada a veces de temblores y escalofríos. El paciente refirió un incremento de la frecuencia de movimientos intestinales sin diarrea franca pero con retortijones ocasionales y dolor abdominal. No refirió cefalea o tos. El paciente había perdido ya alrededor de 5 kg de peso corporal. El resto del interrogatorio no arrojó datos patológicos.

Diez años antes a la presentación de este cuadro las actividades del paciente lo habían situado en riesgo para adquirir infección por VIH; pero nunca se practicó pruebas de laboratorio para determinar su estado VIH.

Datos clínicos

La temperatura registrada fue de 38 °C, frecuencia cardíaca de 90/min, frecuencia respiratoria de 18/min y tensión arterial de 110/70 mm Hg. A la inspección, el paciente no tenía aspecto de padecer una enfermedad aguda. La punta del bazo se palpaba en el cuadrante abdominal superior izquierdo 3 cm por debajo de las costillas (sugestivo de esplenomegalia). No se detectó hepatomegalia y linfadenopatía, ni tampoco signos neurológicos o meníngeos. El resto de la exploración física fue normal.

Datos de laboratorio e imagenología

La cuenta leucocitaria del paciente se encontró estable en 3 000/ μ L (baja). El hematocrito fue de 29% (bajo). La cuenta de células T colaboradoras CD4 fue de 75 células/ μ L (baja; normal 425 a 1 650/ μ L).

La química sanguínea completa sólo reveló una concentración de la enzima fosfatasa alcalina de 210 unidades/mL (alta; normal 36 a 122 unidades/L). La evaluación posterior de la causa de la fiebre del paciente mostró un examen general de orina normal, hemocultivos de rutina negativos y una radiografía de tórax normal. La prueba de antígeno sérico criptocócico resultó negativa. Se realizaron dos hemocultivos para búsqueda de micobacterias, los cuales resultaron positivos a los 10 y 12 días después de la extracción de la sangre. Tres días después, se identificó al microorganismo mediante sondas moleculares y resultó ser complejo *Mycobacterium avium* (CMA).

La prueba ELISA estándar para detección de anticuerpos contra VIH-1 resultó positiva. El análisis *Western blot* también demostró la presencia de anticuerpos contra cada uno de los grupos de antígenos principales de VIH-1, contra las proteínas Gag, Pol y Env. El ensayo de DNA de cadena ramificada para cuantificar el RNA VIH-1 resultó positivo con 300 000 copias/mL.

Tratamiento y seguimiento

El paciente inició un esquema terapéutico triple contra CMA: claritromicina, etambutol y ciprofloxacina. El paciente comenzó a notar bienestar, disminución notable de la fiebre y de las sudoraciones, y aumento de su apetito. De manera concomitante, se le inició la **terapia antirretroviral altamente activa (TARAA)**. Los fármacos empleados fueron dos inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa reversa-zidovudina (AZT) y lamivudina (3TC) y un inhibidor de proteasa, indinavir. El seguimiento del paciente a los cuatro meses después de iniciar la terapia antirretroviral, el ensayo para detectar la carga viral de RNA VIH-1 reveló niveles indetectables del virus: la cuenta de células T CD4 fue de 250 células/ μ L.

Comentario sobre la infección por VIH 1 y SIDA

El periodo de incubación a partir de la exposición hasta el inicio de la enfermedad aguda por VIH-1 suele ser de 2 a 4 semanas. La mayoría de las personas desarrollan una enfermedad aguda que dura 2 a 6 semanas. Los signos y síntomas comunes son fiebre (97%), adenopatía (77%), faringitis (73%), exantema (70%) y mialgia o artralgia. El exantema es de tipo eritematoso, sin prurito y consiste en lesiones máculopapulares (ligeramente elevadas) de 5 a 10 mm de diámetro que generalmente aparecen en la cara o en el tronco, aunque en ocasiones el exantema puede localizarse en las extremidades o en las palmas y plantas o puede ser generalizado, inclusive. Las úlceras de la boca son un rasgo distintivo de la infección primaria por VIH. La enfermedad aguda se ha descrito como un tipo de "mononucleosis", aunque en realidad es un síndrome diferente.

Los anticuerpos IgM anti VIH-1 aparecen a las dos semanas después de la infección primaria y preceden la aparición de anticuerpos IgG, los cuales son detectables después de unas cuantas semanas más. La detección del RNA VIH-1 en etapas tempranas de la evolución de la infección representa un preocupación mayor para los bancos de sangre para fines de prevenir la transfusión de sangre VIH-1 positiva pero anticuerpos anti VIH-1 negativa.

El SIDA es la complicación principal de la infección por VIH-1. El síndrome se define por el desarrollo de infecciones oportunistas serias, neoplasias u otras manifestaciones que ponen en riesgo la vida del enfermo, todas resultado de la inmunosupresión progresiva inducida por el VIH-1. El SIDA es la manifestación más grave de varias enfermedades clínicas posteriores a la infección primaria por VIH-1. La primera definición formal de SIDA como un síndrome se estableció antes de la descripción del VIH-1. La definición se modificó en 1987 para incluir la evidencia de la infección por VIH 1, de nuevo se modificó en 1993 cuando se incorporaron los criterios de la cuenta de células T CD4. Los tres criterios de la cuenta de células T CD4 son los siguientes: 1) > 500 células/ μ L; 2) 200 a 499/ μ L; y 3) < 200/ μ L. Las tres categorías clínicas son las siguientes: A) infección aguda por VIH-1 (linfadenopatía persistente y enfermedad asintomática); B) pacientes con condiciones sintomáticas ya sean atribuibles a la misma infección con VIH-1 o bien a complicaciones de la infección por VIH-1 (candidiasis orofaríngea o vulvovaginal persistente, herpes zóster recurrente, angiomatosis bacilar, etc); C) condiciones que definen al SIDA (véase después). El resultado final de la clasificación actual de la infección por VIH-1 es nueve categorías mutuamente exclusivas: A1, A2, A3, B1, B2, B3 y C1, C2, C3—cuyo objetivo es ayudar a mejorar el manejo clínico y terapéutico de los pacientes con SIDA en gran parte basándose en la cuenta de células CD4. Debido a que las cuentas de células CD4 ya se encuentran disponibles en los países desarrollados, mas no así en gran parte del mundo, el valor de esta clasificación compleja se limita en muchas áreas geográficas. La clasificación tampoco proporciona datos relacionados con la modificación del estado de los pacientes quienes pueden experimentar grandes mejorías con la terapia antirretroviral altamente activa.

Las infecciones que son parte de la definición de SIDA (clasificación clínica C, arriba) se enlistan en el cuadro 48-7.

Cuadro 48-7. Resumen de las infecciones que se relacionan con SIDA: tratamiento, profilaxis y tratamiento de sostén

Infección que se relaciona con SIDA	Tipos de Infección	Tratamiento	Profilaxis o sostén
Virus Citomegalovirus	Retinitis, colitis, esofagitis, neumonía, viremia	Ganciclovir intravenoso, foscarnet	Ganciclovir por vía oral
Herpes simple	Úlcera cutánea, bucofaríngea, o bronquial; proctitis	Aciclovir, foscarnet	Aciclovir
Virus JC	Leucoencefalopatía multifocal progresiva		
Herpes humano 8 (herpesvirus asociado al sarcoma de Kaposi)	Sarcoma de Kaposi		
Bacterias Complejo del <i>Mycobacterium avium</i>	Diseminada o extrapulmonar	Por lo general se utilizan de 2 a 4 fármacos: claritromicina o azitromicina y etambutol o rifabutina o ciprofloxacina o rifampicina	Claritromicina o azitromicina
<i>M. Kansasii</i> , otras micobacterias no tuberculosas	Diseminada o extrapulmonar	De acuerdo a los patrones de susceptibilidad establecidos	
<i>M. Tuberculosis</i>	Cualquier sitio: pulmonar, linfadenitis, diseminada	Isoniacida, rifampicina, pirazinamida y etambutol (otros de acuerdo a los resultados de las pruebas de susceptibilidad) durante dos meses; continuar con isoniacida y rifampicina durante al menos cuatro meses más	Evitar la transmisión mediante buenas prácticas de control de la infección
Infecciones bacterianas piógenas recidivantes	≥ 2 episodios en el lapso de dos años y < 13 años de edad; ≥ 2 episodios de neumonía en un año y cualquier edad; <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>S. agalactiae</i> , otros estreptococos, <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	De acuerdo con la especie	
Especies de <i>Salmonella</i>	Bacteriemia	Cefalosporina de tercera generación, ciprofloxacina	
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	Neumonía	Trimetoprim-sulfametoxazol; isetonato de pentamidina; trimetrexato más leucovorina con o sin dapsona; clindamicina más primaquina	Trimetoprim-sulfametoxazol; dapsona; isetonato de pentamidina en aerosol

Cuadro 48-7. Resumen de las infecciones que se relacionan con SIDA: tratamiento, profilaxis y tratamiento de sostén (continuación)

Infección que se relaciona con SIDA	Tipos de infección	Tratamiento	Profilaxis o sostén
Hongos <i>Candida albicans</i>	Esofagitis, traqueobronquitis; también bucofaringea, vaginitis	Anfotericina B, fluconazol, otros	Fluconazol
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Meningitis, diseminada; también pulmonar	Anfotericina B y flucitosina; fluconazol y flucitosina	Fluconazol
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Extrapulmonar, también pulmonar	Anfotericina B, itraconazol	
<i>Coccidioides immitis</i>	Extrapulmonar, también pulmonar	Anfotericina B	Itraconazol o fluconazol, por vía oral
Protozoarios <i>Toxoplasma gondii</i>	Encefalitis, diseminada	Pirimetamina y clindamicina más ácido fólico	Trimetoprim-sulfametoxazol o pirimetamina-dapsona
Especies de <i>Cryptosporidium</i>	Diarrea durante ≤ 1 mes		
Especies de <i>Isospora</i>	Diarrea durante ≤ 1 mes		

Los tumores que forman parte de la definición de SIDA son el linfoma primario de cerebro, linfoma de Burkitt o inmunoblástico y el carcinoma cervical invasor en las mujeres, además del sarcoma de Kaposi. La encefalopatía causada por VIH-1 que condiciona incapacidad cognitiva o deterioro de las funciones motoras, y la enfermedad de consumo del VIH-1 (> 10% de pérdida de peso y más de 1 mes con diarrea o debilidad y fiebre) también son entidades que definen al SIDA.

Los pacientes infectados con VIH-1 pueden presentar signos y síntomas de referencia a uno o más sistemas orgánicos. En el cuadro 48-8 se enlistan las infecciones oportunistas más comunes de acuerdo a su localización anatómica. Típicamente, la evaluación de pacientes que pueden portar la infección por VIH-1 o presentar SIDA se efectúa con base en la historia clínica y epidemiológica de posible exposición junto con la evaluación diagnóstica de la enfermedad de presentación de acuerdo con el sitio comprometido.

El estado de conocimiento acerca de la terapia farmacológica anti-VIH-1 se encuentra en un cambio constante y rápido, y por tal motivo las recomendaciones de la terapia anti-VIH-1 se deben considerar de manera individual; aquí sólo se presentarán los lineamientos generales. La profilaxis postexposición utilizando fármacos anti-VIH-1 resulta efectiva, y el tratamiento de la infección primaria por VIH-1 puede también tener implicaciones pronósticas favorables. Muchos factores influyen sobre la decisión para comenzar el tratamiento anti-VIH-1, incluyendo la velocidad de descenso de la cuenta de células CD4 y el nivel sanguíneo del RNA-VIH-1. En etapas tempranas de la evolución de la enfermedad por VIH-1, cuando la cuenta de células CD4 es > 500 células/ μ L, es correcto monitorear el estado clínico; cuando la cuenta de células CD4 se encuentra entre 200 y 500 células/ μ L está indicada la terapia antirretroviral, dependiendo de los resultados de la prueba RNA viral; cuando la cuenta de células CD4 cae a < 200 células/ μ L, generalmente se recomienda la terapia con fármacos activos contra VIH-1. Los fármacos empleados para tratar la infección por VIH-1 se discutieron en el capítulo 30. Cuando la cuenta de células CD4 se encuentra por debajo de 200/ μ L, se recomienda el tratamiento con dos inhibidores nucleósidos análogos de la transcriptasa reversa y un inhibidor de proteasa. Esta terapia antirretroviral altamente activa ha mejorado significativamente la vida y el pronóstico para muchos pacientes con SIDA. La modificación de los fármacos anti-VIH-1 puede ser necesaria si la respuesta clínica no es adecuada, ya que la resistencia del VIH a los fármacos se suscita muy frecuentemente. Cuando la cuenta de células CD4 es menor a 200/ μ L, se debe iniciar la profilaxis contra la infección por *P. carinii*; también podría ser apropiada la profilaxis contra otras infecciones oportunistas (cuadro 48-7).

Freedberg KA et al.: The cost effectiveness of combination antiretroviral therapy for HIV disease. *N Engl J Med* 2001;344:824.

Murphy RL (chair): Critical issues surrounding treatment in the era of active antiretroviral therapeutics. *Clin Infect Dis* 2000;30(2 Suppl). [Entire issue.]

Sande MA, Volberding PA (editors): *The Medical Management of AIDS*, 6th ed. Saunders, 1999.

INFECCIONES EN PACIENTES TRASPLANTADOS

CASO 18: TRASPLANTE DE HÍGADO

Un hombre de 61 años de edad se sometió a un trasplante hepático ortotópico debido a una cirrosis causada por hepatitis crónica C. El paciente adquirió la hepatitis C a partir de una transfusión sanguínea durante una cirugía de *bypass* (puente o derivación) coronario diez años antes a la presentación de la enfermedad hepática. La cirrosis se diagnosticó dos años previos al trasplante ortotópico del hígado cuando el paciente presentó hemorragia por ruptura de las várices esofágicas. El sangrado finalmente se controló, pero el paciente posteriormente desarrolló ascitis y encefalopatía hepática, las cuales sólo se controlaron modestamente con tratamiento médico. Al momento de la evaluación inicial del paciente cuatro meses antes del trasplante, las pruebas de función hepática mostraron una aspartato aminotransferasa (AST) de 43 unidades/L (normal 10 a 40 unidades/L), alanina aminotransferasa (ALT) de 42 unidades/L (normal 36 a 122 unidades/L), bilirrubina de 2.9 mg/dL (normal 0.1 a 1.2 mg/dL), albúmina de 2.6 g/dL (normal 3.4 a 5 g/dL) y un tiempo alargado de protrombina de 1.8 INR (*International Normalized Ratio*; Relación Normalizada Internacional). La prueba anti-HCV resultó positiva a través del inmunoensayo ligado a enzima (ELISA). El paciente no respondió a la terapia con interferón alfa más ribavirina.

El trasplante hepático ortotópico se llevó a cabo sin dificultad: la reconstrucción biliar se realizó mediante una coledococoleodostomía (anastomosis primaria del conducto biliar común del donador al del paciente) con la colocación de una sonda T para el drenaje externo de la biliar durante la cicatrización de la anastomosis. Incidentalmente, durante la exploración del explante (retiro del órgano enfermo) se encontró un carcinoma hepatocelular. El paciente inició tratamiento con tacrolimo intravenoso (para disminuir el riesgo de rechazo) en una infusión continua durante 24 h y corticosteroides para inducir inmunosupresión (también para prevenir el rechazo del trasplante). El tacrolimo intravenoso se modificó a vía oral al segundo día. Se administró ganciclovir intravenoso durante los días uno a siete como profilaxis contra infección por citomegalovirus (hepatitis y neumonía); después de discontinuar el ganciclovir, se comenzó la administración de aciclovir oral a dosis altas cuatro veces al día durante tres meses para continuar la profilaxis contra citomegalovirus. También se administró trimetoprim-sulfametoxazol oral dos veces al día como profilaxis contra neumonía producida por *pneumocystis*.

La función del órgano transplantado se estableció inmediatamente después de la cirugía. En el día 7 después del trasplante, la AST fue de 40 unidades/L, fosfatasa alcalina de 138 unidades/L (normal 36 a 122 unidades/L) y bilirrubina de 6.2 mg/dL. El diagnóstico diferencial de la función hepática anormal fue trauma durante la preservación hepática en el periodo desde la donación hasta el trasplante, trombosis de la arteria hepática y, menos común, hepatitis por

Cuadro 48-8. Complicaciones comunes en los pacientes con infección por VIH

Sitio	Complicación y etiología	Comentarios
General	Linfadenopatía generalizada progresiva	Se presenta en 50 a 70% de las personas después de la primoinfección por VIH; debe diferenciarse de un gran número de enfermedades posibles causantes de linfadenopatía
Sistema nervioso	Encefalopatía por VIH; demencia del SIDA	Pérdida de la memoria a corto plazo, dificultad para organizar las actividades de la vida diaria; desatención
	Toxoplasmosis cerebral; <i>Toxoplasma gondii</i>	Es común la afección multifocal del cerebro y lleva a una gran diversidad de enfermedades clínicas; alteración del estado mental, convulsiones, debilidad motriz, anomalías sensitivas, disfunción cerebelosa, etc.
	Meningitis criptocócica; <i>Cryptococcus neoformans</i>	A menudo tiene un inicio insidioso con fiebre, cefalea y malestar
	Leucoencefalopatía multifocal progresiva; virus JC	Inicio de déficit neurológico circunscrito durante un periodo de semanas
	Citomegalovirus	Encefalitis, polirradiculopatía, mononeuritis múltiple
	Linfoma primario del sistema nervioso central	Inicio de déficit neurológico circunscrito en el transcurso de días o semanas
Ojo	Citomegalovirus	Retinitis
Piel	Sarcoma de Kaposi: herpesvirus humano 8 (herpesvirus asociado con sarcoma de Kaposi)	Nódulos cutáneos duros palpables de 0.5 a 2 cm de diámetro; al inicio pueden ser pequeños y más tarde confluentes, con grandes masas tumorales; de color morado, pueden estar hiperpigmentados en las personas de piel oscura; pueden afectarse muchos órganos
	Foliculitis estafilocócica: <i>Staphylococcus aureus</i>	Infección de los folículos pilosos del tronco, la ingle o la cara
	Herpes zoster: virus de la varicela zoster	Vesículas en una base eritematosa con distribución según los dermatomos
	Úlceras herpéticas: virus del herpes simple	Vesículas agrupadas con base eritematosa las cuales evolucionan con rapidez a úlceras; por lo general en la cara las manos y las regiones genitales
	Angiomatosis bacilar: <i>Bartonella henselae</i> , <i>Bartonella quintana</i>	Pápula de color rojo en crecimiento con eritema circundante; apariencia clínica similar a la del sarcoma de Kaposi pero muy diferente en la histopatología
Boca	Candidiasis bucal: <i>Candida albicans</i>	Placas rojas y lisas en el paladar blando o duro; pueden formar pseudomembranas
	Leucoplaquia pilosa: probablemente debida al virus Epstein-Barr	Engrosamiento de la mucosa bucal, a menudo con pliegues verticales o arrugas
	Gingivitis y periodontitis	Encía de color muy rojo; úlceras necrosantes alrededor de los dientes
	Úlceras bucales: herpes simple, virus de la varicela zoster, citomegalovirus y muchos otros agentes infecciosos	Puede presentarse con vesículas recidivantes a las cuales forman úlceras
Gastrointestinal	Esofagitis: <i>Candida albicans</i> , citomegalovirus, virus del herpes simple	Se presenta con deglución difícil y dolorosa
	Gastritis: citomegalovirus	Náuseas, vómito, saciedad temprana, anorexia
	Enterocolitis: <i>Salmonella</i> , <i>Cryptosporidium</i> , <i>Isospora</i> , microsporidios, <i>Giardia</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , muchos otros	Muy común; diarrea, cólicos y dolor abdominal
	Proctocolitis: <i>Nesseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Treponema pallidum</i> , herpes simple, citomegalovirus	Dolor en el recto

Cuadro 48-8. Complicaciones comunes en los pacientes con infección por VIH (continuación)

Sitio	Complicación y etiología	Comentarios
Pulmón	Neumonía intersticial o en consolidación: muchos tumores y muchas especies de bacterias, hongos, virus y protozoarios son capaces de producir enfermedad pulmonar en los pacientes infectados por VIH	El inicio puede ser lento o rápido con fiebre, tos y disnea; el diagnóstico se realiza con frecuencia mediante broncoscopia y lavado broncoalveolar
Aparato genital	Candidiasis vaginal: <i>Candida albicans</i>	Flujo caseiforme anormal con eritema vulvar y prurito; común en las mujeres infectadas por el VIH
	Verrugas genitales: papilomavirus humano	Pueden ser graves en los pacientes infectados por el VIH
	Carcinoma invasor del cuello uterino: papilomavirus humano	En los pacientes infectados por el VIH son comunes las células atípicas o carcinoma en los frotis de Papanicolaou
	Enfermedad pélvica inflamatoria	En las mujeres infectadas por el VIH es más común y más intensa que en otras mujeres
	Herpes genital: virus del herpes simple	Con frecuencia recidivante y más intenso en las personas infectadas por el VIH que en las demás
	Sífilis: <i>Treponema pallidum</i>	La sífilis resulta una enfermedad mucho más progresiva en las personas infectadas por el VIH que en las demás; puede dar lugar al desarrollo acelerado de neurosífilis

herpes simple. La biopsia hepática realizada el día 7 demostró que el problema radicaba en un trauma durante la preservación.

El paciente se dio de alta el día 12 con tratamiento a base de tacrolimo y prednisona para prevenir el rechazo del trasplante. El día 21, una biopsia hepática nueva no mostró evidencia de rechazo celular y las pruebas de función hepática resultaron excelentes: AST 18 unidades/L, fosfatasa alcalina 96 unidades/L y bilirrubina 2 mg/dL. La creatinina sérica fue de 2.2 mg/dL (normal 0.5 a 1.4 mg/dL), por lo que se redujo la dosis oral de tacrolimo. Al día 28, las pruebas de función hepática de nuevo fueron anormales: AST 296 unidades/L, fosfatasa alcalina 497 unidades/L y bilirrubina 7 mg/dL. El diagnóstico diferencial del funcionamiento hepático anómalo era rechazo celular agudo y obstrucción biliar. Era posible la infección por citomegalovirus, aunque ésta generalmente se presenta hasta el día 35 y, además, el paciente se encontraba bajo tratamiento profiláctico contra citomegalovirus. La biopsia hepática reveló rechazo celular agudo.

El paciente se trató con dos dosis vía intravenosa de metilprednisolona seguida por prednisona oral. El nivel sanguíneo de tacrolimo se encontró dentro del rango terapéutico. Otra biopsia hepática de seguimiento dos semanas después mostró un cambio graso leve, pero no rechazo. La AST era de 15 unidades/L, fosfatasa alcalina de 245 unidades/L y bilirrubina de 1.6 mg/dL.

Un mes después, es decir, dos y medio meses postrasplante, la AST de nuevo se elevó a 155 unidades/L, pero la fosfatasa alcalina permaneció sin cambios en 178 unidades/L. La biopsia mostró un cambio graso moderado, necrosis lobular hepatocítica e inflamación portal leve, indicando infección postrasplante por hepatitis C o, bien, rechazo en vía de resolución. No se llevó a cabo el ensayo de reacción en cadena de polimerasa para detección de RNA-HCV debido a que seguramente el resultado sería positivo y esto limitaría su valor pronóstico. La impresión diagnóstica in-

dicaba una hepatitis C recurrente. Se continuó el tratamiento con tacrolimo y prednisona. Durante el mes siguiente, las pruebas de función hepática regresaron a la normalidad.

A los seis meses postrasplante, se retiró la sonda T del sistema de drenaje biliar. El paciente inmediatamente experimentó dolor abdominal difuso intenso. El cultivo de bilis mostró crecimiento de *Escherichia coli* y *Enterococcus faecium*. La impresión diagnóstica señalaba fuga de bilis hacia abdomen. El paciente se trató con ceftriaxona y vancomicina. La colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) con esfinterotomía se realizó con el propósito de mejorar el flujo biliar. El paciente se dio de alta dos días después.

Ocho meses después del trasplante, el paciente presentó edema subcutáneo generalizado (anasarca) y un rash en las extremidades inferiores. Las pruebas de función hepática resultaron ligeramente anormales; el hematocrito y la cuenta leucocitaria fueron normales; el nitrógeno ureico sanguíneo fue de 54 mg/dL (normal 10 a 24 mg/dL) y la creatinina sérica fue de 2.8 mg/dL (normal 0.6 a 1.2 mg/dL). El examen general de orina mostró 4+ de proteínas y más de 50 eritrocitos por campo de alto poder. La biopsia de piel reveló una vasculitis leucocitoclástica. El diagnóstico fue crioglobulinemia.

Cuatro años postrasplante, las pruebas de función hepática del paciente permanecieron normales con excepción de elevaciones intermitentes de AST y ALT. El seguimiento mediante biopsias hepáticas mostró un cambio graso de moderado a grave con inflamación portal de células mononucleares de intensidad leve. El paciente continuó siendo un individuo diabético insulínodpendiente. La función renal se encontró ligeramente alterada, con una creatinina sérica de 1.4 mg/dL, aproximadamente. La calidad de vida del paciente era buena, y actualmente continúa bajo tratamiento con tacrolimo y prednisona. Comparado con otros receptores de trasplante hepático, el paciente tiene un mayor riesgo para desarrollar cirrosis y sufrir pérdida del órgano trasplantado.

Comentario

Los pacientes sometidos a trasplante presentan las infecciones más relevantes y peligrosas durante los primeros meses después del trasplante. Los factores presentes antes del procedimiento quirúrgico pueden ser determinantes importantes. La enfermedad subyacente puede contribuir a una mayor susceptibilidad a infección. El paciente puede no tener inmunidad específica (es decir, quizás nunca tuvo contacto con citomegalovirus), pero el órgano transplantado puede provenir de un donador citomegalovirus-positivo o, bien, una transfusión sanguínea puede transmitir el virus. El paciente puede padecer una infección latente con potencial para ser activa durante el período de inmunosupresión después del trasplante; algunos ejemplos son las infecciones por virus herpes simple, virus varicela zoster, citomegalovirus y otras, incluyendo tuberculosis. El paciente pudo haber recibido agentes inmunosupresores antes del trasplante.

Un factor principal determinante de infección es el tipo de trasplante: hígado, corazón, pulmón, riñón, etc. La duración y complejidad del procedimiento quirúrgico también son importantes. Las infecciones tienden a comprometer al órgano transplantado o a presentarse en combinación con el órgano. En los pacientes con trasplante hepático, la cirugía es más compleja y puede tomar muchas horas. El tipo de drenaje biliar implantado es un factor determinante importante de infección abdominal. La conexión directa del tracto biliar del donador con el intestino delgado del receptor (coledocoyeyunostomía) predispone a infección del tracto biliar más que una conexión del tracto biliar del donador con el tracto biliar existente del receptor (coledococolecostomía). Los pacientes sometidos a trasplante hepático, cuyo tiempo quirúrgico es de 5 a 10 h tienden a presentar un episodio de infección posttrasplante; aquellas cirugías que toman más de 25 h se relacionan con tres episodios infecciosos. Los pacientes sometidos a trasplante hepático se encuentran proclives a desarrollar hepatitis y neumonía por citomegalovirus. La administración temprana de ganciclovir en el período posttrasplante resulta efectiva para reducir el impacto de la enfermedad por citomegalovirus después del evento quirúrgico. Otros fármacos a menudo administrados como profilaxis contra infecciones posttrasplante son: aciclovir para herpes simple y varicela zoster; trimetoprim-sulfametoxazol para neumonía por pneumocystis; anfotericina B u otro agente antifúngico para infecciones micóticas, principalmente candidiasis y aspergilosis; isoniazida para tuberculosis; y una cefalosporina de tercera generación u otros antibióticos para infecciones bacterianas. Los antibióticos suelen administrarse antes, durante y poco después de la operación para prevenir infecciones de la herida y otras infecciones directamente relacionadas con el procedimiento.

El tratamiento inmunosupresor en pacientes trasplantados también predispone a infecciones. Los corticosteroides a dosis altas, utilizados para prevenir el rechazo del trasplante o la enfermedad injerto-versus-huésped, inhiben la proliferación de células T: la inmunidad dependiente de células T y la expresión de genes codificadores de citocinas-induciendo un efecto mayor en la inmunidad celular: la formación de anticuerpos; y la inflamación. Los pacientes que reciben dosis altas de corticosteroides se encuentran mucho más propensos a infecciones micóticas y muchas

otras. La ciclosporina, un péptido, y el tacrolimo, un macrólido, actúan sobre la función de las células T para prevenir el rechazo del órgano transplantado. También se utilizan otros agentes inmunosupresores, así como el suero antilinfocitos. De manera colectiva, los agentes inmunosupresores pueden condicionar un medio donde las infecciones se presentan en los receptores de trasplantes.

El caso 19 presenta un paciente sometido a trasplante de médula. e incluye comentarios sobre las infecciones que suelen presentarse en esas circunstancias.

Fishman JA, Rubin RH: Infection in organ transplant recipients. *N Engl J Med* 1998;338:1741.

Pizzo PA: Fever in immunocompromised patients. *N Engl J Med* 1990;341:893

CASO 19: TRASPLANTE DE MÉDULA ÓSEA

Un hombre de 30 años de edad con leucemia mieloide crónica se sometió a un trasplante de médula ósea de un donador (hermano) que correspondía a su mismo HLA. Antes del trasplante, el paciente recibió radiación en todo el cuerpo y ciclofosfamida a dosis altas con el propósito de destruir permanentemente la leucemia, las células hematopoyéticas y células linfoides.

La primera complicación infecciosa surgió a los 10 días posttrasplante, antes que tuviera lugar la aceptación del injerto por el microorganismo receptor (*engraftment*). El paciente presentó mucositis, enteritis y neutropenia grave con una cuenta de leucocitos de 100 células / μ L (normal 3 400 a 10 000 células/ μ L). Se le administró ceftazidima profiláctica, dosis bajas de anfotericina B, aciclovir y trimetoprim-sulfametoxazol a pesar de tales medidas el paciente presentó fiebre de 39 °C y mal estado general. La impresión diagnóstica era una probable sepsis bacteriana relacionada con la neutropenia, siendo el origen más probable la boca o el tracto gastrointestinal. Otra posibilidad era una infección de la línea central de venoclisis mediante la cual se administraba la terapia intravenosa. También era posible que se tratara de una infección micótica, ya sea por candida presente en sangre o una neumonía causada por aspergillus; no obstante, estas infecciones generalmente se presentan después un trasplante alogénico de médula ósea. El paciente comenzó la terapia con ciclosporina y dosis baja de prednisona muy pronto después del trasplante de médula ósea con el fin de prevenir la enfermedad injerto versus huésped, lo cual lo predispuso a otras infecciones oportunistas; aunque también esto era menos factible durante las primeras semanas después del trasplante.

Cuando empeoró la condición del paciente en el día 10 posttrasplante, se pensó que se trataba de una infección bacteriana. Se realizó un hemocultivo, cambiando la cobertura antibiótica de gramnegativos de ceftazidima a ciprofloxacina. Se adicionó vancomicina de acuerdo con el resultado del hemocultivo. En el día 12, el hemocultivo se reportó positivo para estreptococos *viridans*. El paciente mejoró. La terapia antibiótica continuó hasta incrementar la cuenta leucocitaria a más de 1 000/ μ L.

En el día 30 postrasplante, el paciente se dio de alta a una clínica. El trasplante había sido aceptado y ya no había neutropenia, pero aun así se continuó la terapia con ciclosporina y prednisona para tratar la enfermedad leve injerto *versus* huésped que surgió.

En el día 60 postrasplante, el paciente presentó fiebre, náuseas, dolor gástrico intenso y diarrea. El diagnóstico clínico fue una enteritis por citomegalovirus o empeoramiento de la enfermedad injerto *versus* huésped con compromiso del tracto gastrointestinal. Entre los días 30 y 60, se había iniciado la disminución gradual de ciclosporina y prednisona, puesto que la enfermedad injerto *versus* huésped se encontraba estable. En el día 60, el paciente ingresó al hospital y se inició la evaluación del tracto gastrointestinal superior e inferior mediante endoscopia. Se identificaron lesiones de la mucosa compatibles con infección por citomegalovirus, de las cuales se realizó toma de biopsia. El estudio histológico reveló la presencia de cuerpos de inclusión intranuclear correspondientes a infección por citomegalovirus. Los cultivos resultaron positivos para este agente. El paciente comenzó terapia con ganciclovir y se recuperó.

El paciente se había mantenido estable con buen estado general hasta el día 120, cuando presentó diarrea y las pruebas de función hepática resultaron anormales. La colonoscopia emitió el diagnóstico de empeoramiento de la enfermedad injerto *versus* huésped. Se incrementaron las dosis de ciclosporina y prednisona.

En el día 150 postrasplante, el paciente presentó fiebre y tos, encontrándose en las radiografías múltiples infiltrados pulmonares. El diagnóstico probable fue neumonía micótica, posiblemente causada por especies *Aspergillus*, aunque también existía la probabilidad de la presencia de *Pneumocystis carinii* y neumonía viral. El paciente se sometió a una broncoscopia con lavado y biopsia transbronquial. Los cultivos del tejido de biopsia mostraron crecimiento de *Aspergillus fumigatus*. El paciente se trató con anfotericina B a las dosis más altas que pudo tolerar con base en el monitoreo de la función renal. Esta terapia se continuó durante dos semanas en el hospital y después diariamente

de manera ambulatoria durante tres semanas más. También se disminuyeron las dosis de ciclosporina y prednisona.

Alrededor del día 300, el paciente ya se encontraba libre de infecciones oportunistas. La enfermedad injerto *versus* huésped remitió y las dosis de ciclosporina y prednisona se redujeron de manera escalonada hasta finalmente discontinuarlas. La leucemia mielógena crónica permaneció en remisión. El paciente regresó a laborar tiempo completo a los días 330 después del trasplante de médula ósea.

Comentario

Los pacientes que se someten a trasplante de médula ósea reciben quimioterapia y radioterapia ablativas para destruir su sistema hematopoyético e inmune. El resultado es una neutropenia grave y una inmunidad celular anormal hasta que se acepta la médula trasplantada. Debido a la neutropenia, los pacientes con trasplante de médula ósea se encuentran en un riesgo especialmente alto para presentar infección comprados con los pacientes que reciben trasplantes de órganos sólidos y no se les induce a neutropenia. Los pacientes que se someten a un trasplante alogénico de médula ósea también tienen riesgo de desarrollar la enfermedad injerto *versus* huésped, la cual no se presenta en personas que recibieron trasplantes autólogos de médula ósea (es decir, reciben su propia médula ósea o células madre previamente cultivadas). El tratamiento inmunosupresor utilizada para controlar la enfermedad injerto *versus* huésped también contribuye a formar un medio propicio donde los pacientes se encuentran en un gran riesgo para presentar infecciones.

En la figura 48-1 se muestran las infecciones y los periodos cuando hay más propensión a que se presenten. Durante el primer mes postrasplante, antes de la aceptación del injerto, existe una neutropenia grave y daño de las superficies mucosas debido a la quimioterapia y radioterapia pretrasplante. Los pacientes tienen un gran riesgo para padecer infecciones causadas por bacterias gramnegativas y grampositivas que suelen formar parte de la flora normal de piel, tracto gastrointestinal y tracto respiratorio. También

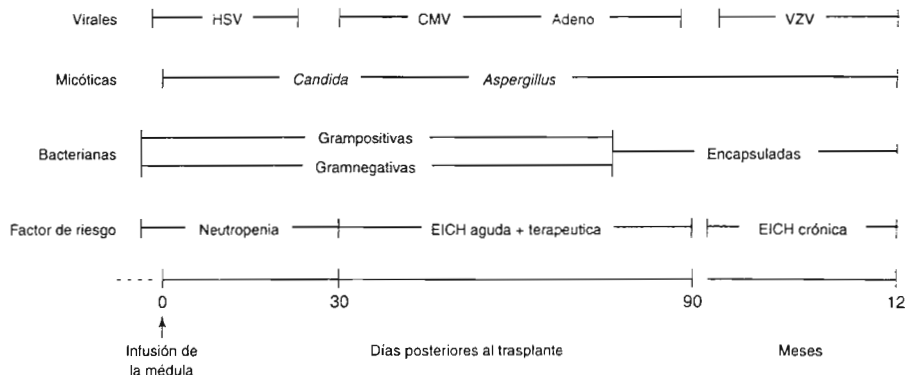


Figura 48-1. Factores de riesgo predisponentes e infecciones comunes después del trasplante de médula. (EICH, enfermedad injerto contra huésped.)

pueden presentarse infecciones recurrentes por el virus herpes simple durante este período.

En los meses segundo y tercero postrasplante, después de la aceptación del microorganismo del órgano transplantado, los pacientes continúan con alteraciones de la inmunidad humoral y celular. Estas alteraciones son aun más graves y persistentes en aquellos pacientes que desarrollan la enfermedad injerto *versus* huésped. Las infecciones principales son neumonía intersticial (alrededor de 50% de los casos causada por citomegalovirus), neumonía por *Aspergillus*, bacteriemia, candidemia e infecciones respiratorias virales.

Después de tres meses postrasplante, se observa una recuperación gradual de la inmunidad tanto humoral como celular. Esta reconstitución lleva de uno a dos años y se puede alterar significativamente en presencia de la enfermedad injerto *versus* huésped. Los pacientes tienen mayor riesgo para padecer infecciones por el virus *varicela* zoster e infecciones del tracto respiratorio, casi siempre causadas por bacterias encapsuladas como *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*.

El tratamiento antimicrobiano profiláctico se administra de manera rutinaria en todo paciente sometido a trasplante de médula ósea. Trimetoprim-sulfametoxazol se administra durante seis meses o durante el tiempo de la inmunosupresión y así prevenir la neumonía por pneumocystis; aciclovir se administra desde el evento del trasplante hasta la aceptación del injerto y así se previene la infección por herpes simple; ganciclovir intravenoso a menudo se indica desde el período inicial postrasplante con el propósito de evitar la enfermedad grave por citomegalovirus. El empleo de esta terapia profiláctica varía dependiendo de si el donador, el receptor o ambos presentan evidencia de infección previa por citomegalovirus. También se pueden administrar fluoroquinolonas o cefalosporinas de tercera generación durante el período de aceptación del injerto y así prevenir infecciones bacterianas; los agentes antifúngicos (p. ej., anfotericina B o fluconazol) se pueden utilizar como profilaxis contra enfermedades micóticas; el empleo de vancomicina para prevenir infecciones por bacterias gram positivas es muy controvertido, en parte debido al riesgo potencial de inducir la selección de infecciones enterocócicas vancomicina-resistentes. Una vez que el sistema inmune regresa al funcionamiento normal, se debe considerar la revacunación con el toxoide diftérico-tetánico, con las vacunas de polisacáridos de neumococo y *H. influenzae*, y vacunas con virus muertos (p. ej., polio, influenza).

van Burik J-A, Wisdorf D: Infections in recipients of blood and marrow transplantation. In: Mandell, Douglas, and Bennen's Principles and Practice of Infectious Diseases, 5th ed. Mandell GL, Bennett JE, Dolan R (editors). Churchill Livingstone, 2000.

GUERRA BIOLÓGICA Y BIOTERRORISMO

El espectro sombrío de la guerra biológica y el bioterrorismo es real. Nadie en el mundo está a salvo de las posibles

consecuencias. Los casos de bioterrorismo con ántrax en EUA en el otoño de 2001 se resumen a continuación. Asimismo, se describen un caso de plaga y brotes de viruela y botulismo, ya que se presentan de forma natural. Estas descripciones y su discusión respectiva tienen la intención de alertar al lector sobre la importancia y consecuencias posibles de la guerra biológica y del bioterrorismo.

CASO 20: BIOTERRORISMO RELACIONADO CON ÁNTRAX EN EUA, 2001

Caso índice en el sur de Florida

El 2 de octubre de 2001, ingresó un hombre de 63 años de edad a la sala de urgencias de un centro médico del sur de Florida como resultado de fiebre, vómito y confusión. Cuatro días después el paciente tenía fiebre, mialgia y malestar general sin síntomas focales específicos. El paciente tenía una historia de enfermedad cardíaca leve pero más allá de ello, su estado era saludable.

En el examen físico, el paciente estuvo alestargado y desorientado. Su temperatura era de 39 °C, tensión arterial de 150/80 mm Hg, frecuencia cardíaca 110/min y frecuencia respiratoria 18/min. La única anomalía posible en el examen físico fue la presencia de ruidos en la auscultación del tórax. No se escucharon estertores. No hubo rigidez de la nuca y los signos de Kernig y Brudzinski no fueron positivos. Se obtuvieron cultivos múltiples de sangre. Se dio inicio al tratamiento con cefotaxima y vancomicina intravenosas antes de una punción lumbar.

El hematócrito fue 46%, el recuento leucocitario 9 400 μ L con 77% de células polimorfonucleares, 15% de linfocitos y 8% de monocitos. Las pruebas de química sanguínea fueron normales. En la radiografía de tórax inicial (véase N Engl J Med 2001;354:1607) se observaron infiltrados basales y un mediastino ensanchado. Una punción lumbar produjo LCR turbio, con una concentración de glucosa de 57 mg/ μ L, 666 mg/dL de proteína y recuento leucocitario de 4 750/ μ L con 81% de células PMN y 19% de monocitos. En el LCR también hubo eritrocitos. La tinción de Gram del LCR reveló gran cantidad de células PMN y bastones grandes grampositivos, a menudo en cadenas. Se consideró un diagnóstico de ántrax, y se agregó penicilina G intravenosa en dosis altas al régimen terapéutico.

El laboratorio del centro médico identificó *Bacillus anthracis* 18 horas después de que había sido cultivado en LCE. Se identificó *B. anthracis* en los cultivos de sangre.

En el segundo día en el hospital, el paciente tuvo una convulsión generalizada. Se intubó al paciente y comenzó la ventilación asistida. Se presentó tensión arterial baja e insuficiencia renal. El paciente murió al tercer día de su estancia en el hospital.

En la autopsia se observó edema tisular generalizado con líquido excesivo en la cavidad peritoneal. Se presentó colapso parcial de los pulmones sin consolidación del tejido pulmonar. Hubo áreas de hemorragia subpleural y perivascular, así como sangre macroscópica en el mediastino, y se detectaron ganglios linfáticos hemorrágicos. El corazón, hígado y bazo fueron normales. No se examinó el cerebro.

El paciente trabajaba como editor de fotografía para una gran compañía que publica un periódico sensacionalista en Palm Beach County, Florida. El 19 de septiembre de 2001, el paciente había examinado una carta que los compañeros de trabajo describieron como sospechosa y que contenía un polvo. Nunca se encontró la carta. Se cultivó *B. anthracis* de 20 de 136 muestras ambientales dirigidas a investigación, obtenidas del 8 al 10 de octubre de 2001. Los cultivos positivos incluyeron dos de 21 del área de trabajo del paciente. Otros cultivos positivos se obtuvieron de la sala de correos, la camioneta del correo y de la oficina de un cartero asintomático que tuvo un cultivo nasal positivo para *B. anthracis*. Entre el 25 de octubre y el 8 de noviembre de 2001, se obtuvieron cultivos adicionales de otras áreas del lugar de trabajo. Se recomendó profilaxis con antibióticos para más de 1 000 personas.

Un segundo paciente que trabajó en la compañía editorial y estuvo muy expuesto al correo relacionado con el trabajo tuvo un inicio de enfermedad el 28 de septiembre de 2001, y se dio a conocer como un posible caso de inhalación de ántrax el 4 de octubre. El 1 de octubre fue admitido al hospital y se dio inicio a un tratamiento con antibióticos. Se obtuvo una muestra nasal el 5 de octubre de 2001, que resultó positiva para *B. anthracis*, pero fueron negativos los cultivos de sangre, lavados bronquiales y líquido pleural obtenidos después del inicio del tratamiento con antibióticos. Las muestras de líquido pleural resultaron positivas para *B. anthracis* mediante la PCR. Así, este paciente fue el segundo caso de inhalación de ántrax. El paciente sobrevivió y se le dio de alta del hospital el 17 de octubre de 2001.

Área de Washington DC, Nueva York, Nueva Jersey y Connecticut

El 18 de septiembre de 2001 se envió por correo desde Trenton, Nueva Jersey, una carta con una gran cantidad de esporas de *B. anthracis*, dirigida a "Editor, New York Post". Al mismo tiempo se envió por correo una carta idéntica al director de noticias de la NBC. El 9 de octubre de 2001, se enviaron desde Trenton dos cartas un poco distintas a las oficinas en el Distrito de Columbia de dos senadores de Estados Unidos. Cada una de éstas contenía una gran cantidad de esporas de *B. anthracis* convertidas en armas muy refinadas. Estas cuatro cartas contaminaron el equipo e instalaciones del servicio postal, salas de correo, las oficinas a las que estaban dirigidas y, quizá, también a otras cartas.

En total hubo 22 casos de ántrax, incluidos los casos de Florida, como resultado de cartas contaminadas. Hubo 11 casos de inhalación de ántrax confirmados en el laboratorio, incluso cinco muertes. Ocurrieron 11 casos de ántrax cutáneo, de los cuales nueve fueron confirmados en el laboratorio y dos quedaron sin confirmar. Los casos ocurrieron en el sur de Florida (como se describió antes), Nueva Jersey, el área del Distrito de Columbia, Nueva York y Connecticut. La mayor parte de los casos ocurrieron en personas que trabajaban en instalaciones postales en Nueva Jersey y el área del Distrito de Columbia, donde se usó equipo de alta velocidad para procesamiento de correo y en personas que trabajaban en salas de correo donde se abrieron o manejan cartas. En varios de los casos, entre otros los de

inhalación fatal de ántrax en Nueva York y Connecticut, fue imposible obtener los detalles de la exposición.

Varios miles de personas en Florida, el Distrito de Columbia, Nueva Jersey y Nueva York con posible exposición a *B. anthracis* recibieron profilaxis antimicrobiana. A las personas que estuvieron expuestas se les ofreció una vacuna experimental contra ántrax. Se tuvieron que cerrar y descontaminar los sitios contaminados. Hubo una alerta nacional, y quizá mundial, ante el peligro del ántrax, en la que gobiernos e instituciones locales aportaron los recursos principales. Todo lo anterior tuvo un gran costo. Es probable que durante algún tiempo continúe el estado de alerta de la investigación y la necesidad de invertir en recursos.

Bioterrorism-related anthrax. Emerg Infect Dis 2002;8(No. 10). Entire issue (31 articles).

Bush LM et al.: Index case of fatal inhalation anthrax due to bioterrorism in the United States. N Engl J Med 2001;345:1607.

Swartz MN: Recognition and management of anthrax—an update. N Engl J Med 2001;345:1621.

CASO 21: BROTE DE VIRUELA

El último caso de viruela en Yugoslavia se reportó en 1927. Yugoslavia es un país donde se practica la vacunación continua de toda la población para proteger contra casos importados de viruela. En 1972, un peregrino regresó enfermo de la ciudad de Meca, presentaba una enfermedad febril sin un diagnóstico preciso. Amigos y familiares lo visitaban de un gran número de áreas diferentes: dos semanas después, las 11 personas cayeron enfermas con fiebre muy alta y rash. Cada una de ellas se enfermó por separado, desconociendo la enfermedad de las otras, y los médicos que las atendieron, muy pocos de los cuales se había enfrentado a algún caso de viruela, emitieron diagnósticos incorrectos.

Uno de los 11 pacientes era un maestro de 30 años de edad que rápidamente enfermó de viruela hemorrágica, una forma aún no diagnosticada por los expertos de ese entonces. El maestro recibió penicilina en una clínica local: no mejoró, por el contrario aumentó la intensidad de la enfermedad, por lo que se transfirió al servicio de dermatología de un hospital de la ciudad y, finalmente, a una unidad de cuidados intensivos debido a la hemorragia profusa y estado de choque. El paciente murió antes de establecer el diagnóstico definitivo. Se llevó a cabo el entierro dos días antes de la identificación del primer caso de viruela.

Los primeros casos se diagnosticaron correctamente cuatro semanas después de que el primer paciente cayó enfermo, aunque para ese entonces ya habían 150 personas infectadas; de éstas, 38 (incluyendo dos médicos, dos enfermeras y cuatro miembros más del personal hospitalario) se infectaron mediante el contacto con el joven maestro. Los casos se presentaron en áreas del país muy distantes unas de otras. Al momento de establecer el diagnóstico, 150 casos secundarios comenzaron a exponer a otra generación de casos. La pregunta inevitable es por qué hubo tantos casos sin detectar.

Las autoridades sanitarias lanzaron una campaña de vacunación a nivel nacional. Se implantaron clínicas de

vacunación masiva y puntos de supervisión junto con retenes con el fin de examinar los certificados de vacunación. Se vacunaron veinte millones de personas. El ejército acordó hoteles y apartamentos residenciales y los tomó como centros de concentración de todos los contactos conocidos de los casos de viruela para mantenerlos bajo vigilancia. Alrededor de 10 000 personas pasaron dos semanas o más en aislamiento. Mientras tanto, los países vecinos cerraron sus fronteras. El brote de viruela se detuvo nueve semanas después de que el primer paciente enfermó. En total, 175 pacientes se expusieron a la viruela y 35 murieron.

Henderson DA: Bioterrorism as a public health threat. *Emerg Infect Dis* 1998; 4: 488. (<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no3hendrsn.htm>)

CASO 22: PESTE

El 2 de agosto de 1996, un hombre de 18 años de edad residente de Flagstaff, Arizona, fue llevado a una clínica de atención primaria debido a la presencia de fiebre de dos días de evolución acompañada por dolor en la ingle izquierda y diarrea. Durante la exploración física se le encontró afebril, una frecuencia cardíaca de 126/min, frecuencia respiratoria de 20/min y tensión arterial de 130/80 mm Hg. Se observó tumefacción y dolor en región inguinal izquierda. El diagnóstico fue un tirón de los músculos inguinales atribuido a una caída dos días antes. El paciente se trató con agentes antiinflamatorios no esteroideos, se le indicó una dieta líquida y se dio de alta. El 3 de agosto, el paciente refirió sentir gran debilidad, dificultad para respirar y colapso mientras se duchaba. Llamó al servicio de asistencia médica de urgencias y cuando el personal paramédico llegó al domicilio del paciente, éste presentó un paro cardíaco. Se le transportó al departamento de urgencias de un hospital y se le dictaminó muerto muy poco después de su ingreso.

El 8 de agosto, los resultados de los hemocultivos de las muestras de sangre obtenidas en el servicio de urgencias presuntamente indicaron crecimiento de *Yersinia pestis* identificada mediante tinción fluorescente de anticuerpos y confirmada mediante lisis bacteriológica específica en el laboratorio del Departamento de Salud Pública de Arizona. Los aislados adicionales del tejido *pos mortem* de cerebro, hígado, pulmón y humor vítreo confirmaron la infección por *Y. pestis* en los CDC de EUA. La investigación epidemiológica llevada a cabo por oficiales de salud pública señaló que el paciente posiblemente adquirió la infección el 27 de julio como resultado del piquete de pulgas infectadas por *Y. pestis* mientras caminaba por una colonia de perros *prairie* (*Cynomys gunnisoni*), una especie de marmotas de las llanuras norteamericanas, en Navajo County. En dos de cuatro perros que eran mascotas de algunas casas cercanas a la colonia de perros *prairie* se identificaron títulos muy altos de anticuerpos contra *Y. pestis*. Se alertó a los dueños de esos perros acerca del riesgo de infectarse de peste y se les instruyó para que mantuvieran aisladas a sus mascotas y las rociaran con insecticida periódicamente. Las madrigueras de perros *prairie*, localizadas a media milla de la zona resi-

dencial, se fumigaron con insecticida como medida de control de la población de pulgas.

Fatal human plague—Arizona and Colorado, 1996. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997;46:617.

CASO 23: BROTE DE BOTULISMO

En Italia, en agosto y octubre de 1993, se notificaron a oficiales de salud pública siete casos de botulismo tipo B originados de dos brotes aparentemente no relacionados entre sí puesto que se registraron en comunidades diferentes. Los párrafos siguientes resumen las investigaciones realizadas por el Observatorio de Salud Regional de Campania y por el Instituto Nacional de Salud de Italia. La enfermedad se relacionó con la ingestión de frascos comerciales de berenjenas tostadas en aceite.

Brote 1

El 14 de agosto, dos meseras de un sándwich bar de Santa Maria di Castellabate ingresaron a un hospital local con disfagia, diplopía y constipación; el diagnóstico clínico presuntivo fue botulismo. El 12 de Agosto, las meseras habían preparado e ingerido emparedados con jamón, queso y berenjena. Una tercera mesera también comió de los emparedados, pero sólo presentó dispepsia, por lo que ella misma se indujo vómito; no presentó síntomas neurológicos. El propietario del bar, quien probó una pieza pequeña de berenjena del mismo frasco el día 12 de agosto se mantuvo asintomático. El cocinero fue el primero en abrir el frasco de las rebanadas de berenjenas tostadas en aceite preparadas comercialmente y probó el contenido el 11 de agosto presentando sólo diarrea. Tanto el cocinero como el propietario refinieron que la berenjena estaba echada a perder.

El diagnóstico presuntivo de botulismo se determinó en las dos pacientes hospitalizadas; ambas se trataron con antitoxina botulínica trivalente y mostraron una mejoría gradual. No se disponía de muestras de los alimentos para su estudio. En el suero de las dos pacientes hospitalizadas no se detectó la toxina botulínica; no obstante, los coprocultivos posteriormente mostraron crecimiento de *Clostridium botulinum* tipo B.

Brote 2

Durante los días 5 y 6 de octubre, cuatro de nueve miembros de una familia grande que habían cenado juntos el 2 de octubre fueron hospitalizados en Nápoles con sospecha de botulismo. La comida consistió en aceitunas verdes, *prosciutto* (jamón), ensalada de frijoles, ensalada verde, queso mozzarella, salchichas y berenjenas tostadas en aceite preparada comercialmente. De acuerdo con la investigación y el análisis de los antecedentes de ingestión de alimentos, la berenjena se señaló como la fuente más probable (riesgo relativo, indefinido: $p < .01$). Todos los pacientes se trataron con antitoxina botulínica trivalente, mostrando mejora

gradual. El 27 de septiembre, la investigación señaló que otro miembro de la familia había abierto el frasco de berenjena posiblemente contaminado, dentro del cual introdujo un tenedor y aunque no ingirió ninguna berenjena, utilizó el mismo tenedor para consumir otros alimentos; el 28 de septiembre presentó vómito, disfagia y visión doble, pero no se hospitalizó porque los síntomas se resolvieron espontáneamente. El 28 de octubre, este mismo paciente se encontraba asintomático, pero se hospitalizó y trató con antitoxina botulínica trivalente después de establecer el diagnóstico de botulismo en otros miembros de la familia.

Uno de los pacientes hospitalizados presentó debilidad de los músculos respiratorios y requirió ventilación mecánica. La muestra de suero de un paciente resultó negativa para la toxina botulínica. Las muestras para coprocultivo de tres pacientes revelaron la presencia de *C. botulinum* proteolítico tipo B. Tampoco se recuperó alguna muestra de berenjena para las pruebas pertinentes.

Investigación de seguimiento

Las berenjenas preparadas comercialmente sospechosas de ser la causa de los brotes de botulismo habían sido producidas por una compañía que sólo las comercializaba en Italia. La compañía reportó que el procedimiento de preparación de las berenjenas era de la manera siguiente: las rebanadas de berenjena se lavaban y mantenían remojadas durante toda la noche en una solución de agua, vinagre y sal; se tostaban en un horno y después se colocaban en frascos de vidrio, a los cuales se adicionaba ajo, pimienta, orégano y ácido cítrico. Cada frasco se cubría hasta el tope con aceite de girasol y se sellaba con tapas de rosca; después de llenarlos, los frascos se hervían en agua durante 30 minutos. El pH del producto no se monitoreaba de manera rigurosa. Se estudió un total de 119 frascos de eggplant del mismo lote que causó los brotes; en ninguno de ellos se detectaron esporas de *C. botulinum* ni toxina botulínica. El pH del producto variaba desde 3.9 hasta 5.1; en 24 (20%) frascos estudiados el pH excedía a 4.6.

Type B botulism associated with roasted eggplant in oil—Italy, 1993; MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1995;44:33.

UNA HISTORIA BREVE DE LA GUERRA BIOLÓGICA

En el siglo XIV durante la época de cerco de Kaffa (actual Feodosiya, Crimea), tuvo lugar una epidemia de peste entre los tártaros agresores. Los cadáveres de muertos infectados con peste se introdujeron intencionalmente en catapultas dentro del ciudad y así se dio inicio a una epidemia de peste; al parecer, los tártaros lograron su objetivo, ya que ese episodio epidémico pudo haber sido un factor predisponente para la segunda pandemia de peste.

En el siglo XVIII durante la guerra francesa e hindú (1754-1767), hubo diseminación de la viruela. El 24 de junio de 1763, un oficial británico proporcionó sábanas que contenían fomites de un hospital de concentración de en-

fermos de viruela estadounidenses nativos del valle del río Ohio. A este acto sucedió una epidemia de viruela en estadounidenses nativos; quizás también contribuyó la viruela padecida por estadounidenses europeos.

En la primera Guerra Mundial, se pensó que Alemania utilizó *B. anthracis* y *Burkholderia mallei* para discretamente contaminar animales y alimento para animales comercializados por países neutrales que negociaban con los aliados.

Entre 1932 y 1945, Japón contaba con un programa para desarrollo de armas biológicas en Harbin, China. Había 150 edificios, cinco campos satélites y 3 000 elementos del personal científico. Al menos 11 ciudades chinas fueron atacadas con *B. anthracis*, *Neisseria meningitidis*, especies *Shigella*, *Vibrio cholerae* y *Y. pestis*. Agua y alimentos estaban contaminados. Los cultivos se realizaban en los propios hogares. Los microorganismos se diseminaron a través de aerosoles liberados desde aeroplanos; los aerosoles contenían pulgas infectadas con peste, 15 millones por ataque. Diez mil prisioneros murieron a causa de infecciones experimentales. Las tropas japonesas sufrieron 10 000 víctimas y 1 700 muertes. Se estima que murieron más o menos 270 000 personas en los pueblos.

Entre 1942 y 1969, EUA contaba con un programa de armas biológicas en el Fuerte Detrick, Maryland, con sitios de experimentación en Mississippi y UTA. Los sitios de producción eran Terre Haute, Indiana y Pine Bluff, Arkansas. Los agentes bélicos utilizados eran *B. anthracis*, toxina botulínica, *Francisella tularensis*, *Brucella suis*, *Coxiella burnetii*, enterotoxina B estafilocócica y virus de la encefalitis equina venezolana. El potencial bélico biológico se destruyó entre 1971 y 1973.

En el decenio de 1940-49, los aliados esforzaron por desarrollar un potencial bélico biológico con *B. anthracis*. Durante la experimentación con bombas, una isla pequeña (Isla Gruinard en el Mar Norte e la costa de Escocia) resultó contaminada y muy insegura, puesto que persistieron en la isla esporas viables de *B. anthracis*. En 1986, se llevó a cabo la descontaminación, altamente costosa, de la isla utilizando formalina y agua de mar.

En 1984, el culto Rajneesh utilizó *Salmonella typhimurium* para contaminar las barras de ensaladas de 10 restaurantes en The Dalles, Oregon. Se registraron 751 casos de enteritis y 45 hospitalizaciones.

En el decenio de 1990-99, el culto Aum Shinrikyo alegadamente lanzó en Japón tres ataques biológicos sin éxito alguno; los agentes utilizados fueron *B. anthracis* y toxina botulínica. En 1992, este mismo culto envió algunos miembros al antes llamado Zaire con el fin de obtener virus Ebola para el desarrollo de armas. En marzo de 1995, liberaron sarina en el sistema del metro de Tokio, resultando en la muerte de 12 personas.

En 1996, un brote de *Shigella dysenteriae* tipo 2 se suscitó en 12 de 45 trabajadores del laboratorio de un hospital. La cepa *Shigella* resultó idéntica a aquella de la colección de cultivos almacenada en el congelador del laboratorio de microbiología del hospital. Se contaminaron donas y muffins, los cuales fueron introducidos en la habitación para descanso del personal por una persona no identificada. Una persona anónima también contribuyó al anunciar vía correo electrónico la presencia de donas y

muffs utilizando la computadora de un supervisor que en ese entonces no se encontraba presente.

Al comienzo del decenio de 1990-1999 hubo muchos cientos, posiblemente miles, de amenazas de transmitir *B. anthracis* por los sistemas de ventilación de los edificios o por correo. Varias agencias gubernamentales investigaron estos sucesos a un gran costo. Todos los casos resultaron ser falsos hasta el otoño de 2001.

Christopher GW *et al.*: Biologic warfare: a historical perspective. JAMA 1997;278:412.

El brote de ántrax en Sverdlovsk en 1979

Sverdlovsk (Yekaterinburgo) es una ciudad de 1.2 millones de habitantes localizada a 1 400 km de Moscú. Esta ciudad se sitúa en el extremo oriental de los Montes Urales, en la frontera entre Europa y Asia. Es el lugar donde el último Zar de Rusia y su familia fueron acerbados: es un sitio donde grandes fábricas de armamento operaban, actualmente clausuradas. En 1979, Boris Yeltsin era el oficial mayor del Partido Comunista de la región.

En abril de 1979, se presentó un brote de ántrax respiratorio en Sverdlovsk. El primer caso inició el 4 de abril. En las seis semanas posteriores, hubo un total de 77 casos documentados con 66 muertes, que después de una revisión resultaron ser 79 casos con 68 muertes. La enfermedad atacó a 55 hombres con un promedio de 42 años de edad; ninguno tenía menos de 24 años. Se afectaron también 22 mujeres con un promedio de edad de 55 años, de las cuales sólo dos mujeres-24 y 32 años- tenían menos de 40 años. Ningún niño enfermó. Lo cual es un hecho que aún no se comprende, puesto que también hubo niños expuestos a la bacteria.

En orden de frecuencia, los signos y síntomas fueron fiebre, disnea, tos, cefalea, vómito, temblores, debilidad, dolor abdominal y dolor torácico.

Inicialmente, los pacientes ingresaron a sus hospitales o clínicas locales. El 12 de abril de 1979 pacientes con fiebre alta u otros signos de posible ántrax se refirieron al hospital número 40 de la ciudad.

En la zona de la ciudad donde la mayoría de los pacientes residía, brigadas de bomberos se encargaron del lavado de las fachadas de los edificios y cortezas de los árboles; se sacrificaron perros callejeros; se asfaltaron calles sin pavimentación; se colocaron pósters y periódicos que alertaban contra el consumo de carne sin garantía de inspección sanitaria. (Al principio se dijo que el brote era de ántrax gastrointestinal derivado de gente que consumió carne podrida).

A mediados de abril, se implantó un programa voluntario de inmunización para personas sanas entre los 18 y 55 años de edad; se empleó una vacuna a base de esporas no encapsuladas. Se reclutó un total de 59 000 personas, de las cuales 80% se vacunó al menos una vez.

La mayoría de los 77 pacientes vivía y trabajaba en la zona sur de la ciudad; algunos asistían a entrenamiento de servicio militar o, bien, tenían otros motivos para estar en esa área. Otras personas tenían ocupaciones que los obligaba a ir a esa parte de la ciudad. Sesenta de los 66 casos mapeados se encontraban en una zona limitada de 4 km de

longitud aproximadamente que se extendía el sur desde las instalaciones militares de microbiología hasta el límite sur de la ciudad.

En un área de hasta 50 km en el sur de Sverdlovsk, se registraron muertes o sacrificios forzados de ovejas y vacas. Los animales correspondían a seis aldeas, todas en la línea sur de la instalación militar de microbiología. Desde antes de la revolución rusa, el ántrax animal era sólo una enzootia en la región de Sverdlovsk, pero los casos animales en 1979 únicamente se suscitaron en la dirección del viento hacia el sur de las instalaciones militares de microbiología.

Los registros meteorológicos del aeropuerto, localizado a 10 km al este de la ciudad, indicaban que sólo el lunes 2 de abril de 1979 habrían vientos provenientes del norte. Todos estos datos sugieren que los casos humanos y animales de ántrax fueron el resultado de la liberación de *B. anthracis* desde las instalaciones militares de microbiología el 2 de abril de 1979.

Una conclusión importante derivada de estas observaciones es que el periodo de incubación del ántrax respiratorio va desde dos hasta 43 días, con una modalidad de 9 a 10 días.

Se llevó a cabo la autopsia de 42 cadáveres, identificando necrosis hemorrágica de ganglios linfáticos torácicos y mediastinitis hemorrágica.

En 1992, Boris Yeltsin, como Presidente de Rusia, declaró que los filtros de aire de las instalaciones militares de microbiología no se habían activado desde temprano la mañana del 3 de abril de 1979, por lo que la liberación de esporas de *B. anthracis* al medio ambiente fue un acto no intencional. No se sabe si la contaminación tuvo lugar el 2 de abril, como señalaron los registros de la dirección del viento, o el 3 de abril, como indicó el Sr. Yeltsin en su declaración.

Posteriormente, se realizó el análisis de PCR en tejidos obtenidos a partir de las muestras de autopsia. Se utilizaron primers (preparadores o iniciadores) para detectar la región variable del gen *vrrA* del cromosoma de *B. anthracis*. El gen *vrrA* posee una función aún desconocida; contiene cinco categorías de un número variable de repetición en tándem (VNTR, del inglés *variable number of tandem repeats*). Únicamente una categoría de VNTR se identificó en cada cepa de *B. anthracis*. Los resultados del análisis de PCR revelaron que al menos cuatro de las cinco categorías de cepas estaban presentes en las muestras de tejido.

Abramova FA *et al.*: Pathology of inhalation anthrax in 42 cases from the Sverdlovsk outbreak of 1979. Proc Natl Acad Sci U S A 1993;90:2291.

Jackson PJ *et al.*: PCR analysis of tissue samples from the 1979 Sverdlovsk anthrax victims: The presence of multiple *Bacillus anthracis* strains in different victims. Proc Natl Acad Sci U S A 1998;95:1224.

Meselson M *et al.*: The Sverdlovsk anthrax outbreak of 1979. Science 1994;266:1202.

Preparación de Irak para la Guerra Biológica

La Comisión Especial de las Naciones Unidas (UNSCOM) y la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA) in-

vestigaron las armas de Irak de destrucción masiva desde 1991 a 1998. A continuación se sintetiza y se subraya la información más relevante obtenida de los reportes abiertos de esta investigación, así como experiencias personales adicionales.

El programa de guerra biológica en Irak comenzó en la década de 1970 y se expandió en 1985. Se estudiaron dos bacterias patógenas. Para *Bacillus anthracis*, se produjeron aproximadamente 8 000 L de solución con una espasa y una cuenta celular de 10^9 /mL; 6 000 L se emplearon para llenar armas. El segundo patógeno fue *Clostridium perfringens*; se produjeron 340 L de solución.

Se estudiaron cinco virus. Dos de ellos-virus de la fiebre amarilla y el virus hemorrágico Congo-Crimea-resultado-inadecuados debido a la necesidad de contar con vectores para su transmisión. En 1990, se estudiaron al enterovirus 17, rotavirus humano y virus camelpox, y el desarrollo se detuvo.

También se estudiaron toxinas. Se produjeron 2 200 L de aflatoxina (hepatotóxica, nefrotóxica, carcinógena); 20 000 L de toxina botulínica, de los cuales 11 500 L se colocaron en el interior de las cabezas de misiles Scud; la ricina es una toxina muy potente que se utiliza para asesinar, y en ese programa se produjeron 10 L de una solución concentrada; también se estudiaron las micotoxinas trico-teneceno, con las cuales se produjeron 20 mL.

Aproximadamente, hubo una producción total de 200 de las bombas de 400 libras cada una con capacidad para 85 L; 100 bombas se llenaron con toxina botulínica, 50 con ántrax y 7 con aflatoxina. Las bombas se hicieron explotar en dos sitios. En aquella época Irak tenía en su poder 8000 misiles Scud provenientes de países del bloque soviético y 80 misiles adicionales fabricados en Irak. Los misiles tenían alcance de 300 km con una capacidad de carga de hasta 1 tonelada métrica; algunos se modificaron ampliando su alcance a 600 km y disminuyendo su capacidad de carga; a algunos se les adaptaron cabezas con material biológico, 13 con toxina botulínica, 10 con aflatoxina y 2 con ántrax. Todos los misiles se detonaron, 10 en un túnel profundo de pado del tren y 15 en agujeros cavados a lo largo del río Tigris.

Los sistemas de liberación potenciales incluían cohetes de 122 mm que, al parecer, no se utilizaron. Aparentemente tampoco se emplearon varios cientos de sistemas dispersantes de pesticida de fabricación italiana.

En marzo de 2003, Estados Unidos junto con Gran Bretaña, y con la colaboración de algunos otros países, invadieron Irak. La justificación fueron las armas de destrucción masiva de Irak. El gobierno de Irak mencionó que ya había destruido estas armas. En los meses previos a la invasión, los inspectores de las Naciones Unidas no encontraron armas de este tipo. La guerra inicial duró casi un mes.

Desde diciembre de 2003, no se han encontrado armas de destrucción masiva.

Zilinskas RA: Iraq's biological weapons: the past as future? JAMA 1997;278:418.

Comentario

Muchos agentes se han sugerido para utilizarse o ya haberse utilizado en actos de bioterrorismo o guerra. Cuatro agentes encabezan muchas de las listas: *Bacillus anthracis*, ántrax; viruela; *Yersinia pestis*, peste; y toxina botulínica. La peste por lo general requiere un vector (la pulga), y la liberación de toxina botulínica es un proceso difícil. Sin embargo, el ántrax y la viruela representan posibles problemas importantes, como quedó manifestado por la liberación accidental de ántrax pulverizado de una instalación militar microbiológica de la Unión Soviética en 1979, los 22 casos de ántrax inducidos por el bioterrorismo en EUA en 2001 y por el brote de viruela en Yugoslavia en 1972.

La Organización Mundial de la Salud estimó que el número de víctimas que se generaría en caso de un ataque de guerra biológica hipotético. Se asumió que se liberarían 50 kg del agente biológico desde una nave a lo largo de una línea de 2 km en contra del viento sobre el centro de una población de 500 000 habitantes. Se estimó que el ántrax podría alcanzar hasta más de 20 km a favor del viento y así resultar en 125 000 personas incapacitadas, incluyendo 95 000 muertes.

Durante el 2001, en EUA ya se iniciaron acciones para enfrentar incidentes posibles relacionados con el uso de armas cargadas con agentes biológicos. Se volvió evidente que las respuestas significativas presentes y futuras requerirían recursos sustanciales de gobiernos federales, estatales y locales. La educación de la comunidad médica es esencial, así como lo es la educación del público en general y de las personas encargadas de la elaboración de políticas públicas.

Es importante construir un consenso internacional para condenar el uso de armas biológicas como agentes de terrorismo o guerra.

Biological agents as weapons. JAMA 1997;278(5): 347-446. [Entire issue.]

Cieslak TJ et al.: Immunization against potential biologic agents. Clin Infect Dis 2000;30:843.

National symposium on medical and public health response to bioterrorism. Emerg Infect Dis 1999;5(4): 491-563. [Entire issue.]

Índice

A

- Abdomen, 740
Absceso(s), 740
 abdominal o perirrectal, 705
 cerebral, 704, 733
 e infección, 713
 hepático, 705
 intraabdominales, 741
 peribucal, 704
Ácaros, 346
Acción antibacteriana, reversión de la, 59
Ácido(s)
 aminosalicílico, 190
 desoxirribonucleico (DNA), 93
 diaminopimélico, 24
 fosfonotórmico (PFA), 401
 lipoteicoico, 149, 227
 nuclear, detección de, 554
 nucleico,
 amplificación y detección de, 726
 del virus tumoral en una célula
 huésped, retención del, 585
 detección de, 355, 492, 551, 568, 611
 detección de antígenos e hibridación de, 721
 hibridación de, 726
 inhibición de la síntesis de, 162
 sonda de, 708
 viral, 372
 pentapéptido, 78
 poli β -hidroxibutírico, 14
 ribonucleico (RNA), 93
 teicoico, 24, 220
 teicurónico, 24
Acinetobacter, 260
Actinobacillus, 261
Actinomicetes, 302
Actinomicetoma, 217, 632
Actinomicetos, 215
Actinomicosis, 215
Actinomyces, 209
 israelii, 215
 naeslundii, 215
 neuui, 213
 pyogenes, 213
Activación alostérica, 89
Actividad
 antimicrobiana,
 componentes del medio, 165
 de penicilinas, 173
 de quinolonas, 187
 de tetraciclinas, 182
 estabilidad del fármaco, 166
 factores que afectan la, 165
 in vitro, 165
 in vivo, 166
 magnitud del inóculo, 166
 medición de la, 166
 tiempo de incubación, 166
 antiviral y otros efectos biológicos, 401
 enzimática, regulación de la, 89
 metabólica, estado de la, 167
Adenosina, trifosfato de (ATP), 351
Adenovirus, 366, 415-423, 597
 adhesión, penetración y pérdida de la envoltura de, 417
 detección, aislamiento e identificación, 421
 ensamblado y maduración virales, 418
 infección en humanos, 419
 propiedades de los, 415
 replicación de los, 417
 sobre las células, efectos del, 419
 sobre los mecanismos de defensa del huésped, 418
 susceptibilidad animal y transformación de células, 419
Adherencia, 156
 factores de, 148
Adyuvante, 122
Aeromonas, 268
Aerotaxia, 33
Aflatoxina, 648
Aftovirus del ganado, 497
Agar, 68
 semisintético, medio de, 313
Agentes
 antimicrobianos, 56
 modos de acción, 56
 eliminación de, 59
 físicos y químicos, reacción a los, 377
 químicos, 59
Aglutinación, prueba de, 254, 281
 por dilución en un tubo, 254
Agrupamientos celulares, 39
Aireación, 65
Alcalógenos, 261
Alcoholes, 57, 59
Aldehídos, 57, 59
Alelos, 100, 139
Algas, 3, 7
 heterótrofas, 7
Algodoncillo, 642
Alphavirus, 512, 513
Allodermanyssus sanguineus, 346
Amantadina, 400
Ambiente, 167
 natural, supervivencia de microorganismos en el, 51
Amibas
 de vida libre, 674
 intestinales, 669
Amikacina, 185
Aminoglucósidos, 161, 185
 resistencia a, 238
Amoxicilina, 178
Amplificación
 basada en la secuencia de ácidos nucleicos (ABSAN), 711
 mediada por transcripción (AMT), 711
Anaerobios, 737

- facultativos, 301, 306
 fisiología y condiciones de crecimiento para, 301
 gramnegativos, 302
 grampositivos, 302
 infección por, 719
 inmunidad en infecciones por, 302
 obligados, 301
- Anafilotoxinas, 132, 140
 Análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), 137, 708, 727
 Anfotericina B, 648
 Angiomatosis bacilar, 310
 Anormalidades congénitas, 723
 Antagonismo
 microbiano, 170
 químico, 58
 Antibacterianos
 que afectan a la membrana celular, 22
 resistencia a, 59
 Antibióticos, 56, 725
 diarrea relacionada con, 207
 empleo clínico de, 168
 peligros del uso indiscriminado, 169
 pruebas de susceptibilidad a, 169
 selección de, 168
 y otros antibacterianos, 378
 Anticodón, 103
 Anticuerpo(s), 122, 140
 anti-VIH, análisis para detección de, 727
 bloqueadores, 282
 estructura y función del, 123
 fluorescente directo (DFA), 355
 funciones protectoras de los, 131
 monoclonales, 106, 123, 140, 703
 policlonales, 123, 703
 rama mediada por, 121
 Antiestreptolisina O, 230
 Antígeno(s), 121, 140, 352
 de la pared celular específico de grupo, 229
 detección del, 550, 553, 559, 565, 708, 716, 726
 viral, 611
 específicos,
 compartidos por el grupo, 352
 de especie o específicos a variedad serológica, 352
 H, 32, 246
 K, 246
 O, 29, 246
 p24, detección del, 728
 presentación del, 128
 procesamiento del, 128
 protector (AP), 200
 pruebas para detección de, 234, 440
 respuesta secundaria del, 130
 rickettsiales y serología, 343
 virales, 442
- Antimicóticos tópicos, 651
 Antimicrobianos
 empleados en combinación, 169
 mecanismos de acción de, 159
 para administración sistémica, 172
 resistencia a, 162
 Antiporte, 17
 Antiséptico(s)
 definición de, 56
 urinarios, 189
 Antivirales, 614
 Ántrax, 199
 bioterrorismo relacionado con, 765
 cutáneo, 200
 por inhalación, 200
 Aparato
 de Golgi, 10
 gastrointestinal, muestras del, 717
 respiratorio, 719
 urinario, infección recidivante del, 171
 Apareamiento equivocado, reparación del, 102
Arachnia, 303
 Arbovirus, 367
 ciclos de transmisión huésped-vector del, 516
 infecciones en humanos por, 509
 periodo de hibernación del, 517
Arenaviridae, 510
 Arenavirus, 367
 enfermedades por, 525
 Arqueobacterias, 43, 45, 89
 Artritis, 707
 de Lyme, 332
 Artroconidiosis, 654
 Artrópodos, enfermedades virales transmitidas por, 509–530
 Artrosporas, 654
 Ascomycetos, 624
 Ascosporas, 654
 Aséptico, definición de, 56
 Asimilación, vías de, 62
 Aspartato, 77
 Aspergiloma y colonización extrapulmonar, 645
 Aspergilosis, 645, 709
 alérgica broncopulmonar, 645, 647
 invasora, 645
Aspergillus
 flavus, 648
 fumigatus, 709
 Aspiración transtraqueal, 717
 Astrovirus, 367, 372, 507
 Atenuación, 105
 Atopia, 135
 Atrofia muscular progresiva pospolio-miética, 488
 Autoinductores, 5
 Autolisinas, 29
 Autorradiografía, 10
- Autorreinfección, 691
 Autótrofos, 62
 Aviadénovirus, 417
 Azálidos, 161
 Azitromicina, 183
 Azoles, 649
Azotobacter, 67
 Azufre, 14
 fuentes de, 63
-
- ## B
-
- Babesia microti*, 679
 Bacilo(s)
 acidorresistente, 313
 entéricos gramnegativos, 243–256
 gramnegativos, 302
 grampositivos, 302
 formadores de esporas, 199–208
 no formadores de esporas, 209
 tuberculoso, constituyentes del, 315
Bacillus, 199
 anthracis, 147, 199
 cereus, 202
 Bacitracina, 184
 Bacterias, 32
 aerobias, 306
 alcalófilas, 32
 anaerobias, 43, 306
 diversas, infecciones pulmonares pleurales mixtas causadas por, 736
 facultativas, 43
 infecciones por, 301–306
 microaerófilas, 43
 presentes en infecciones en humanos, 301
 capnofílicas, 306
 clasificación de, 41–49
 con pared celular defectuosa, 341
 corineformes, 213
 criterios para la clasificación de las, 41
 descripción de las principales categorías y grupos de, 43
 entéricas gramnegativas, 165
 filogenéticas, 42
 fototróficas, 43
 gramnegativas poco comunes, 261
 grampositivas, peptidoglucano de, 153
 lisogénicas, 97
 no fototróficas, 43
 patógenas,
 diseminación hematogénica de, 745
 naturaleza clonal de, 148
 puertas de entrada de, 147

proceso infeccioso de, 147
que causan enfermedad. identificación de, 145
quimiolitótrofos, 87
SIDA y, 610
sistemas de identificación y clasificación, 42
subtipificación y aplicación, 46
vaginits por, 311
y arqueobacterias, 6

Bactericida(s), 725
definición de, 56
Bacteriemia con lesiones focales, 253
Bacteriocinas, 246
Bacteriófagos, 96
Bacteriostático, definición de, 56
Bacteroides, 302
Balantidium coli, 673
Bartonella, 309
Bartonella
 bacilliformis, 309
 henselae, 310
 quintana, 310

Basidio, 654
Basidiomicetos, 624
Basidiosporas, 654
Bebé flojo, 203
Bejel, 328
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 43
Bifidobacterium, 303
Biguanidas, 57, 59
Biocapas bacterianas, función de las, 155
Biocida(s)
 de uso común para antisepsia, 58
 definición de, 56
Biología molecular, 3
Biomasa, densidad de la, 51
Biopsia de pulmón, 717
Bioquímica, 3
Bioterrorismo
 guerra biológica y, 764
 relacionado con ántrax, 764

Biotipos, 42
Bisfenoles, 57, 59
Blastoconidios, 654
Blastomicina, 640
Blastomicosis, 638, 640, 709
Blastomyces dermatitidis, 639, 709
Blastosporas, 654
Bordetella, 278
 avium, 278
 bronchicanis, 278
 bronchiseptica, 278, 280
 parapertussis, 278, 279
 pertussis, 278
Bornavirus, 368
Borrelia, 329
 bucalis, 335
 burgdorferi, 330

 fiebre recidivante y, 329
 refringens, 335

Botulismo, 202
 brote de, 766
Bradizoitos, 681
Broncoscopia, 717
Brucella, 280
 abortus, 280
 melitensis, 280
Bunyaviridae, 510
Bunyavirus, 368, 513
 encefalitis por, 522
 enfermedades por, 524
Burkholderia
 cepacia, 260
 mallei, 260
 pseudomallei, 259

C

Cadena(s)
 codificadora, 93
 invariables (I), 128
 ligeras (L), 123
 molde, 93
 pesadas (H), 123

Caja de Petri, 68
Calicivirus, 367, 499, 505
Calor, 59
 y frío, 377
Calymmatobacterium granulomatis, 311
Cambio antigénico, 137
Campilobacterias, 269
Campo oscuro, iluminación de, 9
Campylobacter, 147
 coli, 269
 fetus, 270
 jejuni, 269
Cáncer y SIDA, 610
Candida
 albicans, 710
 y levaduras interrelacionadas, 641
Cardioidiasis, 710
 crónica mucocutánea, 643
 cutánea, 642
 y mucosa, 642
 sistémica, 642

Capa(s), 36
 S, 15, 16
 superficiales, 12
Capnófito, 261
Cápside, definición de, 363
Capsómeros, definición de, 363
Cápsula, 30
Carácter de extraño, 122
Carbapenems, 181
Carbohidratos
 interconversiones de, 71
 variaciones adicionales en la fermentación de, 86

Carbono, fuentes de, 62
Carboxisomas, 14
Carcinogénesis
 de etapas múltiples, 584
 viral, aspectos generales de la, 583
Carcinoma nasofaríngeo, 443
Cardiobacterium, 261
Cardiopatía, 171
Carga viral en plasma, 609
Catalasa, 221
 coco grampositivos negativos a, 241
 prueba de la, 223
Catarró común, 492
Cebador, 110
 F, 100
 R, 100
Cefalosporinas, 179
 de cuarta generación, 181
 de primera generación, 179
 de segunda generación, 179
 de tercera generación, 179
 efectos adversos de las, 181

Cefotetan, 179
Cefoxitin, 179
Célula(s), 232
 asesinas naturales (NK), 121, 140
 B, 122, 140
 conservación de las, en la fase exponencial, 54
 de memoria, 608
 diploides, 7, 95
 efectoras armadas, 133
 eucarionte, estructura de la, 10
 haploides, 95
 homólogas, 95
 invasión de, 149
 nerviosas, 608
 no permisivas, 378
 permisivas, 378
 plasmática, 140
 polimorfonuclear (PMN), 140
 procariontes,
 comunidades de, 5
 estructura de la, 12

T, 122
 CD4, vigilancia de las cuentas de, 728
 citotóxicas, 121, 140
 colaboradoras, 121
 desarrollo de, 133
 diferenciación de, 133
 funciones de la, 134
 proliferación de, 133

Celulitis cutánea, 704
Centrifugación diferencial, 725
Cepa(s)
 recombinantes en el ambiente, 112
 virulenta, 389

- Cercarias, 692
 Cervicitis, 355, 706
 mucopurulenta, 750
Cestoda, 659
 Cestodos, 693
 α -cetoglutarato, formación de, 74
 Chancro duro, 326
 Chancroide, 719, 752
 Chaperona, 20
Chilomastix mesnili, 662
Chlamydia
 pneumoniae, 353, 720, 738
 infecciones respiratorias por, 357
 psittaci, 353, 358, 720
 detección de, 359
 trachomatis, 353, 720
 afección del aparato respiratorio por, 356
 conjuntivitis de inclusión por, 355
 infecciones ocular, genital y respiratoria, 354
 Choque
 por calor, respuesta al, 64
 por frío, 65
 Ciclo
 artrópodo-artrópodo con infección ocasional de humanos y vertebrados inferiores, 385
 de vida, cambios en el, 39
 eritrocítico, 676
 humano-artrópodo, 385
 vertebrado inferior-artrópodo con infección colateral al hombre, 385
 Cicloserina, 191
 CID (coagulación intravascular diseminada), 153
 Cigomicetos, 623
 Cigomicosis, 646, 710
 Cigosporas, 654
 Cigosporo, 654
 Cigotos, 97
Ciliophora, 659
 Cisticercos, 694
 Cisticercosis, 694
 Cistitis, 746
 Citocinas, 120, 134
 Citolisinas, 153
 Citólisis, 132, 140
 Citomegalovirus, 428, 437
 Citometría de flujo, 138
 Citotoxina traqueal, 278
 Citrobacter, 245, 248, 249
Cladophialophora carrionii, 631
Cladosporium, 631
 Clamidas, 5, 351-360
 crecimiento y metabolismo, 352
 diagnóstico de infecciones por, 720
 infecciones genitales por, 718
 Clamidoconidios, 654
 Clamidosporas, 654
 Clarithromicina, 183
 Clasificación de Lancefield, 230
 Clindamicina, 184
 Clonas, 106
 Cloranfenicol, 161, 183
 Cloroplastos, 11
 Clorosomas, 14
 Clostridios que producen infecciones invasoras, 205
Clostridium, 147, 202, 303
 botulinum, 147, 151, 202, 303
 difficile, 303
 y enfermedad diarreica, 206
 perfringens, 147, 151, 205, 303
 tetani, 151, 204, 303
 Clotrimazol, 651
 CMA (complejo *Mycobacterium avium*), 755
 Coaglutinación, 221
 Coagulación intravascular diseminada, 153
 Coagulasa, 153
 prueba de, 223
 y factor de agrupamiento, 221
Coccidia, 659
Coccidioides
 immitis, 633, 709
 posadasii, 633
 Coccidioidomicosis, 633, 638, 709
 Cocos
 gramnegativos, 302
 grampositivos, 304
 negativos a catalasa, 241
 Codón, 103
 Coinfecciones virales, 608
 Colagenasa, 153
 Colecistitis, 705
 Coledococoleodocostomía, 762
 Coledocoyeyunostomía, 762
 Cólera, 147, 152
 Colicinas, 246
 Colitis
 hemorrágica, 706
 pseudomembranosa, 202, 206
 Colitivirus, 513
 Colorante
 de Kinyoun, 703
 de Ziehl-Neelsen, 703
 Comezón del jinete, 628
 Complejidad química y estructural, 122
 Complejo
 Mycobacterium
 avium, 321
 avium, infección diseminada por, 755
 fortuitum-chelonae, 321
 principal de histocompatibilidad, 127, 140
 poligénico, 127
 polimórfico, 127
 proteína polimerasa viral, 547
 Complemento, 140
 activación del, 131
 cascada del, 153
 consecuencias clínicas de las deficiencias del, 132
 fijación del (FC), 352
 prueba de, 343
 principales efectos biológicos del, 132
 sistema del, 131
 vías alternativas de la activación del, 119
 Componentes virales, síntesis de, 380
 Compuestos de amonio cuaternario (QAC), 60
 Comunidad clonal, 5
 Concentración
 bactericida mínima (CBM), 712
 inhibitoria mínima (CIM), 712
 microbiana, medición de la, 51
 Condilomas, 326
 Conidióforo, 654
 Conidios, 623, 654
 Conjugación, 99, 100
 Conjuntiva, flora microbiana normal de la, 196
 Conjuntivitis, 723
 de inclusión
 del recién nacido, 355
 por *Chlamydia trachomatis*, 355
 hemorrágica aguda, 492
 Consejo genético, 111
 Conservación, definición de, 56
 Constante de la tasa de crecimiento, 52
 cálculo de la, 52
 Conversión génica, 99
 Coracidio, 694
 Corazón, 739
 Corinebacterias
 anaerobias, 213
 lipofílicas, 213
 no lipofílicas, 213
 Coriomeningitis linfocítica (CML), 526, 722
 Coronavirus, 367, 372, 565-569
 infección en humanos por, 567
 propiedades de los, 565
 replicación de los, 566
 Correlación y casos clínicos, 731-769
 Corteza, 36
Corynebacterium, 209
 amycolatum, 213
 diphtheriae, 148, 151, 209, 213
 jeikeium, 213
 minutissimum, 213
 pseudotuberculosis, 213
 striatum, 213
 ulcerans, 213
 xerosis, 196, 213
 Cotransducción, 101
 Coxsackievirus, 490
 Crecimiento
 cambios morfológicos durante el, 38

celular de una especie dada, 66
 con acetato, 74
 con dióxido de carbono: ciclo de Calvin, 74
 curva del, 53
 estándar, 51
 exponencial, 52
 intracelular, sitio de, 316
 requerimientos para el, 61
 significado del, 51
 Crestas, 11
 Criptococosis, 710
 Criseobacterias, 262
 Crisis aplásicas transitorias, 411
 Cristalografía de rayos X, 369
 Cromatografía de fase líquida de alta resolución, 319
 Cromobacterias, 261
 Cromoblastomycosis, 631
 Cromomicosis, 631
Cryptococcus neoformans, 643, 710
Cryptosporidium, 681
 Cuerpo(s)
 de inclusión, formación de, 375
 elemental (CE), 351
 reticulado (CR), 351
 Cultivo
 en cultivo de células, 725
 en frasco cápsula, 726
 sistemas de, 703

D

Dapsona, 189
 Dedo
 de ballenero, 215
 de cazador de focas, 215
 Dengue, 521
 hemorrágico, fiebre por, 521
 síndrome de choque por, 521
Dermaconter
 andersoni, 346
 variabilis, 346
 Dermatitis, 627
 Dermatofitos, 625, 710
 Desasimilación, vías de, 62
 Desinfectantes, 172
 definición de, 56
 Desnitrificación, 62
 Desplazamiento
 antigénico, 137
 cromosómico, 111
 Despolimerasas, 75
 Desviación y cambios antigénicos, 535
 Detergentes, 377
 Determinantes antigénicos, 122
 Deuteromicetos, 624
 Diabetes mellitus, 492

Diagnóstico
 microbiológico en medicina, principios del, 701-730
 molecular, 708
 Diarrea, 492
 acuosa, 742
 bacteriana, 705, 706
 relacionada con antibióticos, 207
Dientamoeba fragilis, 662
 Difosfopiridina nucleotidasa, 230
 Difteria, 151
 Difusión
 facilitada, 16
 método de, 166
 Dilución, 68
 método de, 166
 Dinucleótido nicotinamida adenina (NAD), 275
 Dipicolinato cálcico, 37
 Diritromicina, 183
 Disenteria, 742
 Diversidad
 biológica, 3
 generación de la, 125
 procarionte, 5
 División celular, 38
 DNA
 bacteriano, 97
 bases complementarias del, 93
 clonación de los fragmentos digestión del, 107
 clonado
 análisis con, 111
 caracterización del, 109
 manipulación del, 112
 complementario, 111
 con extremos cohesivos, 98, 107
 daño al, 56
 detección del, serología y detección de antígenos, 319
 estructura del, 93
 eucarionte, 97
 fragmentos de restricción del, 93
 mecanismos de recombinación, 99
 plantilla del, 110
 proviral de VIH-1, detección del, 728
 ramificado (bDNA), 711
 recombinante, 384
 repetitivo, 95
 secuenciación del, 109
 secuencias facilitadoras del, 104
 separación física de fragmentos de diferente tamaño del, 106
 transferencia del, 98
 transformación del, 99, 102
 viral, replicación del, 451
 y eventos tardíos, 418
 virus tumorales con, 592
 Dolor
 de rebote, 741
 torácico pleurítico, 736

Donovania, 311
 Donovanosis, 752

E

Ebola, virus de, 528
 Echovirus, 493
 Ecología, 3
 Ectima gangrenoso, 258
 Ehrlichias, 343-350
 Ehrlichiosis, 348
Eikenella corrodens, 261
 Electroforesis
 con enzimas de locus múltiples (MLE), 46
 en gel, 106
 de campos pulsados (PFGE), 47
 Electrones, taxia hacia aceptores de, 33
 Electroporación, 109
 Elementos de inserción, 96
 Embarazo ectópico, 355
 Empiema, 736
 torácico, 705
 Encefalitis, 431, 722
 equina
 de California, 513
 de San Luis, 513
 occidental, 513
 oriental, 513
 venezolana, 513
 japonesa B, 516
 por bunyavirus, 522
 por flavivirus, 512
 por togavirus, 512
 posvacunal, 456
 Encefalopatía espongiiforme
 bovina, 580
 transmisible, 369, 578
Encephalitozoon
 hellum, 684
 intestinalis, 684
 Endocarditis, 739
 aguda, 233
 infecciosa, 233
 subaguda, 233
 Endocervicitis, 749, 750
 Endocitosis, 379
 Endoflagelos, 325
 Endosimbiontes, 6
 Endosporas, 34
 propiedades de las, 37
 Endotoxina(s), 29, 140, 250
 características de, 150
 Energía metabólica, fuentes de, 61
 Enfermedad(es)
 bacterianas, diagnóstico de, 702
 bucofaríngea, 430
 cardíaca y muscular, 492

- cavitaria apical, 755
 de Alzheimer, 580
 de Borna, 577
 de Brill-Zinsser, 346
 de Chagas, 668
 de Creutzfeldt-Jakob, 580
 clásica, 580
 de desgaste crónico, 580
 de las trincheras, 335
 de Lyme, 330
 de Newcastle, 549
 de pezuña y boca, 497
 de Whipple, 311
 del aparato respiratorio, 171
 del trasquilador de lana, 200
 diarrea, *Clostridium difficile* y, 206
 exantemática de Boston, 493
 febril, 722
 indiferenciada, 492
 fusospiroquetel, 335
 gastrointestinal por adenovirus, 420
 generalizada del lactante, 492
 granulomatosa crónica, 137
 linfoproliferativas en huéspedes inmunodeficientes, 443
 mano-pie-boca, 491
 micóticas, diagnóstico de, 702
 pélvica inflamatoria (EPI), 355, 707, 749, 750
 por arañazo de gato, 310
 por enterobacterias, 247
 posestreptocócicas, 233
 priónicas, 578
 respiratorias, 722
 por adenovirus, 420
 transmitidas por vía sexual, 718
 vesicular porcina, 492
 virales,
 conceptos básicos de, 389
 cutáneas y sistema nervioso central, 393
 emergentes, 386
 patogenia y control de, 389-407
- Enlaces anhidrido, 61
 Enmascaramiento fenotípico, 384
 Ensayos de desplazamiento de cadena (EDC), 711
Entamoeba histolytica, 669
 Enteritis, 705, 706, 723
Enterobacter aerogenes, 249
Enterobacteriaceae, 243
Enterococcus
 durans, 231
 faecalis, 231
 faecium, 231
 Enterococos, 164, 238
 resistencia a antibióticos, 238
 Enterocolitis, 253, 705, 706
Enterocytozoon biveusi, 684
 Enterotoxina(s), 221, 742
 de *Vibrio cholerae*, 266
 estafilocócica, 152
 termoestable, 248
 Enterovirus, 483, 487
 en el ambiente, 494
 otros tipos de, 494
 Entrada y replicación primaria, 389
 Envenenamiento por alimentos, 152
 Envoltura
 adhesión, penetración y pérdida de la, 378
 celular, 15
 gramnegativa, 16
 grampositiva, 16
 definición de, 363
 externa, 325
- Enzimas, 153
 como proteínas alostéricas, 89
 de restricción, 93, 98, 106
 destructoras de tejidos, 153
 inactivación de, 90
 modificación covalente de, 90
 toxinas y, 221, 229, 247
- Epidermophyton*, 710
 floccosum, 626
 Epididimitis, 355
 Epiglottitis, 705
 Epitopo, 140
 Equinocandinas, 651
 Erisipela, 232
 Eritema
 infeccioso (quinta enfermedad), 411
 migratorio, 330
 Eritromicinas, 183
Erysipelothrix, 209
 rhusiopathiae, 214
Escherichia, 245
 coli, 19, 247, 737
 enfermedades diarreicas asociadas con, 247
 enteroagregativa (ECEA), 248
 enterohemorrágica (ECEH), 248
 enteroinvasora (ECEI), 248
 enteropatógena (ECEP), 247
 enterotoxigénica (ECET), 247
- Escólex, 694
 Escotocromógenos, 318
 Esferoplastos, 29, 30, 159, 341
 Espacio periplásmico, 16, 29
 Espargano, 694
 Esparganosis, 695
 Especie(s)
 concepto de, 42
 eucariontes, 7
 Espectinomycin, 186
 Espiroquetas
 de la cavidad bucal y mucosas normales, 335
 enfermedades por, 335
 y otros microorganismos espirales, 325-336
- Espora, 6, 654
 pared de la, 36
 Esporangio, 654
 Esporangióforo, 654
 Esporangiosporas, 623, 654
 Esporocistos, 681, 692
 Esporotricosis, 629, 709
 Esporozoarios, 680
 de la sangre, 674
 Esporozoitos, 675
 Esporulación, 35
 proceso de diferenciación, 35
 Esputo, 736
 purulento, 736
- Estado
 anamorfo, 654
 teleomorfo, 654
 Estafilococos, 164, 219-226
 coagulasa-negativos, 219
 coagulasa-positivos, 219
 Esterilidad, 355
 Esterilización, 55
 definición de, 56
 Esterilizantes de fase de vapor, 60
 Estreptocinasa, 153, 229
 Estreptococos, 227-242
 clasificación de los, 230
 del grupo,
 C y G, 231
 E, F, G, H y K-U, 231
 N, 231
 del grupo A,
 detección y terapéutica antimicrobiana temprana de infecciones respiratorias y cutáneas por, 235
 en los portadores, erradicación de, 235
 del grupo B, 231, 233
 β hemolíticos del grupo A, enfermedades por, 232
 invasores del grupo A, infecciones por, 233
 nutricionalmente variables, 232
 viridans, 231
- Streptodornasa, 229
 Streptograminas, 184
 Streptolisina
 O, 153, 230
 S, 153, 230
 Streptomicina, 186, 319, 755
 Estrobilos, 693
 Estructura(s)
 celular, 9-40
 citoplásmicas, 10, 13
 Etambutol, 190, 319, 755
 Éter, 725
 susceptibilidad al, 377
 Etidio, bromuro de, 106
 Eubacterias
 gramnegativas que tienen paredes celulares, 43

- grampositivas que tienen paredes celulares, 43
que carecen de paredes celulares, 43
Eubacterium, 303
Eumicetoma, 632
Evacuaciones en agua de arroz, 267
Examen
citológico directo, 355
en campo oscuro, 327
microbiológico de materiales naturales, 66
Exantemas, 723
Exoenzimas hidrolíticas, excreción de, 19
Exones, 105
Exosporio, 36
Exotoxina(s), 151, 221
características de, 150
de la *Shigella dysenteriae*, 250
pirógena(s), 230
A, 152
estreptocócicas: A, B y C, 230
relacionada con enfermedades diarreicas, 152
termolábil, 247
Expresión génica, 93, 103
control negativo en la, 105
control positivo en la, 105
regulación de la, 105
- F**
- Factor(es)
ambientales que afectan al crecimiento, 63
antifagocítico, 154
de agrupamiento, 221
de colonización, 248
de competencia, 102
del crecimiento, 63
edema (FE), 200
Hageman, 153
letal (FL), 200
R, 100
sigma, 35
Pago(s), 97
líticos, 96
temperados, 96
Fagocitosis, 119
factores que afectan a la, 119
por enrollamiento, 150
Faringe, 717
Faringitis, 704
estreptocócica, 232
Fármacos
antimicrobianos,
concentración de, 167
distribución de, 167
mecanismos de acción de, 159
resistencia a, 162
implicaciones clínicas de la resistencia a, 164
 β lactámicos, 181
limitación de la resistencia a, 164
origen de resistencia a, 163
patógeno, interrelaciones, 167
resistencia de origen,
genético, 163
no genético, 163
Fasciola hepatica, 693
Fasciolopsis buski, 693
Fascitis necrosante, 232
Fase
de declinación, 54
de rezago (A), 53
estacionaria máxima (E), 53
exoeitrocítica, 676
exponencial (C), 53
L, variantes de, 341
Fenoles, 57, 60
Fenómeno de satélite, 275
Fenotipos, 93, 382
mezcla de, 384
Feohifomicosis, 632
Fermentación(es), 5, 61
de Entner-Doudoroff, 85
de otros sustratos, 86
Feromonas, 5
Fialoconidios, 654
Fibrinolisina, 153, 229
Fiebre, 120, 152
amarilla, 519
de la garrapata de Colorado, 513, 523
de Lassa, 526, 722
de Oroya, 309
del Oeste del Nilo, 513
del valle, 634
del Rift, 523
efectos benéficos de la, 121
entérica, 252, 705, 742
escarlantina, 230, 233
hemorrágica, 722
africana, 528
con síndrome renal, 524
de Junin, 526
de Machupo, 526
de Sudamérica, 526
transmitida por roedores, 524
venezolana, 526
manchada, 345, 347
por dengue hemorrágico, 521
por jejenes, 523
por mordedura de rata, 311
puerperal, 232
Q, 345, 347
prevención de la transmisión de la, mediante pasteurización adecuada de la leche, 347
quebrantahuesos, 521
recidivante y borrelia, 329
reumática, 233, 234
quimioprofilaxia antiestreptocócica para, 235
tifoidea, 252, 742
Filamentos de interconexión, 12
Filópodos, 214
Filos, 42
Filoviridae, 510
Filovirus, 368
clasificación y propiedades de, 527
enfermedades por, 527
Fimbrias, 258
Flagelados intestinales, 660, 662
Flagelina, 32
Flagelo(s), 32
lofotrico, 32
monotrico, 32
peritrico, 32
Flaviviridae, 510
Flavivirus, 367, 513
clasificación y propiedades de, 512
encefalitis por, 512
propiedades antigénicas de, 513
replicación de, 513
Flora
bacteriana y micótica normales, importancia de la, 711
gastrointestinal normal, 741
microbiana, alteración de la, 168
microbiana normal,
de la boca, 194
de la conjuntiva, 196
de la uretra, 196
de la vagina, 196
de vías respiratorias superiores, 194
del cuerpo humano, 193–198
normal,
de la boca en la caries, función de la, 195
de la piel, 194
del intestino, 195
residente, función de la, 193
Flucitosisina, 649
Fonsecaea compacta, 631
pedrosoi, 631
Formaldehído, 377
Formas L, 30
Foscarnet, 401
Fosfoenolpiruvato, formación y utilización del, 73
Fosforilación oxidativa, 19
Fósforo, fuentes de, 63
Fosfotransferasa, sistemas de, 19
Fotocromógenos, 318
Fotosíntesis, 62
bacteriana, 89
Fototaxia, 33

Frambesia, 328
Francisella tularensis, 282

Frotis
 de Tzank, 435
 teñidos, 237

FRS (fiebre hemorrágica con síndrome renal), 524

FTA-ABS (pruebas con anticuerpo fluorescente para treponema), 327

Fuerza
 iónica, 66
 motriz protónica, 61, 82

Fusobacterias, 302, 335

G

Gametos, 97
 haploides, 7

Gangrena
 estreptocócica, 232
 gaseosa, 151, 202, 205, 303, 748

Gardnerella vaginalis, 311

Gastroenteritis, 705, 706, 742

Gen(es), 93
 de inmunoglobulinas, 125
 dominante, 95
 mecanismos de transferencia de, 93
 modificadores del huésped codificados por el virus, 452
 organización de, 93
 recesivo, 95
 reordenamiento de, 102
 restricción y otras limitantes en la transferencia, 98
 supresores tumorales, 592

Genética, 3
 microbiana, 93–114
 y heterogeneidad antigénica, 295

Genoma(s), 382
 eucarionte, 95
 procarionte, 95
 virales, 96

como vectores, 384
 expresión de, 380
 mapeo de los, 382

Genotipo, 93, 382
 Gentamicina, 185
 Germinación, 37
Giardia lamblia, 660
 Glomerulonefritis, 233

aguda, 233
 posesreptocócica, 136

Glucocálix, 30
 Glucopéptidos, 184
 Glucoproteínas virales, 373

Glucosa
 fermentación de la, 84
 6-fosfato, interconversiones de, 71

Glutamato, 77
 Goma sifilítica, 327
 Gonococos, 164
 Gonorrea, 145, 718
 Granulocitopenia grave, infecciones por oportunistas en, 171
 Granulocitos, 119
 Granuloma inguinal, 311, 719, 752
 Granulomatosis infantiséptica, 214
 Gránulos

alimentarios de reserva, síntesis de, 81
 de volutina, 14
 metacromáticos, 14

Gripe
 asiática, 541
 de Hong Kong, 541
 rusa, 541

Griseofulvina, 651

Grupos de Lancefield A-U, K-U, 229

Guerra biológica
 historia breve de la, 767
 y bioterrorismo, 764

Gusanos
 adultos de vida libre, 691
 planos, 691

H

Haematozoa, 659
Haemophilus, 275
aegyptius, 277
aphrophilus, 277
 B. vacuna conjugada, 277
ducreyi, 277
haemoglobinophilus, 277
influenzae, 275, 737

Halófilos, 66

Halógeno, liberadores de, 60

Hantavirus, 524
 síndrome pulmonar por, 513, 524

Haplotipo, 127
 Hapteno, 140
 Heces líquidas, 670

Helicobacter pylori, 270

Helminthos, 684
 Hemaglutinina
 estructura y función de la, 533
 filamentosa, 278

Hemoflagelados, 663

Hemolisinas, 153, 230, 278

Hemólisis, 41, 230

α , 230

β , 230

HENDRA, infecciones por virus, 560

Henipavirus, 546

Hepadnavirus, 366, 372

Hepatitis, 723

A.
 diagnóstico de laboratorio de, 471
 epidemiología de, 475
 prevención y control, 479

B.
 diagnóstico de laboratorio de, 471
 epidemiología de, 478
 prevención y control, 480
 replicación del virus de la, 467
 virus de la, 598

C.
 diagnóstico de laboratorio de, 472
 epidemiología de, 478
 prevención y control, 480
 virus de la, 598

D (hepatitis delta),
 diagnóstico de laboratorio de, 474
 epidemiología de, 478
 prevención y control, 480

tipo A, 463
 tipo B, 463
 tipo C, 467
 tipo D (hepatitis delta), 467
 tipo E, 467
 virus de la, 463–482
 infecciones en humanos por, 469
 propiedades de los, 463

Herencia genética, 93

Heridas, infección de, 713

Herpes
 genital, 431, 718, 752
 neonatal, 431
 simple, virus de, 429

Herpesvirus, 366, 425–447, 597
 humano 6, 428, 444
 humano 7, 445
 humano 8, 428, 445
 infecciones en humanos por, 429
 propiedades de los, 425, 429
 replicación del, 427
 revisión de enfermedades por, 427

Heterogeneidad antigénica, 154

Heterolactato, fermentaciones de, 85

Heteropolímeros, 31

Heterótrofos, 46, 62
 facultativos, 46
 quimiosintéticos, 43

Hexacanto, 694

Hfr, donadores, 100

Hialuronidasas, 153, 229

Hibridación, 106
 de ácidos nucleicos, 726
in situ, 10

Hibridomas, 123

Hidatidosis, 694

Hidrogenosoma, 11

Hierro, necesidad de, 154

Hifas, 621, 654

Hígado, trasplante de, 759

Hipersensibilidad, 134
 a los hongos, 647

- inmediata, 134
 inmunidad e, 316
 mediada,
 por anticuerpos, 141
 por células, 136, 141
 por complejos inmunitarios, 136
 por contacto, 136
 reacciones de, 141
 tipo I, mediadores de la, 135
 tipo II, 136
- Hipervariables, 124
 Hipnozoítos, 677
 Hipoglucemia, 152
 Hipotensión, 152
 Hipótesis, 3
 Histamina, 135
 Histocompatible, definición de, 140
Histoplasma capsulatum, 636, 709
 Histoplasmosis, 638, 709
 pulmonar crónica, 637
 Homopolímeros, 31
 Hongos, 3, 7, 610, 659
 crecimiento y aislamiento de, 624
 dematiáceos, 623, 654
 dimorfos, 654
 hipersensibilidad a los, 647
 imperfectos, 654
 perfectos, 654
 propiedades generales y clasificación de, 621
- HPLC (cromatografía de fase líquida de alta resolución), 319
- Hueso(s)
 infección de, 713
 y tejido blando, 747
- Huésped, 3
 amplia variedad de, 5
 constitución genética del, 122
 diseminación de los microorganismos en el, 316
 efectos de la edad del, 399
 inmunocomprometido, 440
 inmunodeficiente, infecciones en, 432
 inmunosuprimido, 438
 mecanismos de defensa específicos del, 121
 normal, 438
 parásito, características de la interrelación, 353
 patógeno, interrelaciones, 168
 respuesta inmunitaria del, 392, 584
- Huso, 97
- Imipenem, 182
Immunoblot, 332
 Impétigo, 704
 Inactivación fotodinámica, 377
 Inclusión citoplásmica, 351
 Incompatibilidad
 grupo de (Inc), 99
 plasmídica, 99
- Índice antimicrobiano, 59
- Inductor, 105
- Infección(es), 156
 abortivas, 378
 anaerobias,
 diagnóstico de, 305
 inmunidad en, 304
 naturaleza polimicrobiana de, 304
 patogenia de, 304
 tratamiento de, 305
 bacteriana, patogenia de la, 145-157
 complicada del tracto urinario, 746
 con virus lentos, 578
 congénitas y perinatales, 438, 440
 cutáneas,
 por virus de herpes simple, 431
 primarias, 710
 de la piel, 719
 de vías urinarias, 706
 del aparato urinario, 247
 del tejido blando, 719
 diagnóstico de, según el sitio anatómico, 713
 diseminada, microsporidia e, 684
 en huéspedes inmunodeficientes, 432
 en pacientes trasplantados, 759
 genitales, 355
 por clamidia, 718
 inevidente o subclínica, 395
 intestinal, microsporidia e, 684
 intraabdominales y pélvicas, 719
 latente, 378
 micobacteriales, fármacos para, 189
 micóticas comunes, 709
 ocular(es),
 microsporidia e, 684
 por adenovirus, 420
 persistentes, 584
 por bacterias anaerobias, 301-306
 por oportunistas, 610
 en granulocitopenia grave, 171
 primaria y tipos de reactivación tuberculosa, 316
 productivas, 378
 pulmonares pleurales mixtas por bacterias anaerobias diversas, 736
 recuperación de la, 391
 respiratorias, 492
 virales agudas, revisión de, 396
 transmisión de la, 147
 vesical aguda no complicada, 742
 virales,
 congénitas, 398
 crónicas y latentes, 394
 cutáneas, 397
 del aparato gastrointestinal, 397
 del sistema nervioso central, 398
 diagnóstico de, 721
 medición de la respuesta inmune para la, 726
 prevención y tratamiento de, 399
 susceptibilidad celular a, 585
- Inflamación, definición de, 140
- Influenza
 empleo de vacunas en la, 542
 española, 541
 no complicada, 538
 virus de la, 531-543
 infecciones en humanos por, 537
 replicación del, 535
- Ingeniería genética, 93, 106
- Inhibición por retroalimentación, 89
- Inhibidor de fusión, 400
- Inmunidad
 activa, 118
 adquirida, 118, 140
 concomitante, 678
 e hipersensibilidad, 316
 humoral, 140
 innata, 140
 mediada,
 por anticuerpos, 129
 por células, 121, 133, 140
 natural, 117
 pasiva, 118
 y respuesta inmunitaria, 117
- Inmunoanálisis enzimático (EIA), 355, 708, 721, 727
- Immunoblotting*, 138, 708
- Inmunofluorescencia, 137, 327, 352
 directa, 138
 indirecta, 138, 343
- Inmunoglobulina(s), 122, 140
 cambio de clase de, 126
 clases de, 124, 140
 familia de supergenes de, 128
 humana contra la rabia (IG-HR), 576
 IgA, 124
 IgD, 125
 IgE, 125
 IgG, 124
 IgM, 124
 pliegue de, 128
 tetánica, 205
- Inmunología, 117-141
- Inmunomicroscopia electrónica, 727
- Interferones, 121, 140, 401
 mecanismos del virus para contrarrestar, 402
 propiedades de, 401
 síntesis de, 401
- Internalinas, 150
- Interrelaciones filogenéticas, 6
- Intrones, 95, 105

Invasión, 157
 Inyección intraperitoneal de esputo a ratones, 237
 Iones hidrógeno, concentración de, 64
 Islas de patogenicidad, 96, 101
 Isoniacida, 189, 319, 755
 Isospora, 680

J

Jejenes, fiebre por, 523

K

Kanamicina, 185
 Kilopares de bases (kpb), 93
Kingella, 262
Klebsiella
 Enterobacter-Serratia, 245, 248
 pneumoniae, 737
 Kuru, 580

L

β lactamasas, 160
 de amplio espectro (ESBL), 160
 producción de, 240
 β lactámicos, 181
 resistencia a, 240
 Lactobacilos, 241, 303
 Larva cisticercoide, 694
 Lavado bronquioalveolar, 717
 Lecitinas, 151, 153
Legionella, 738
 pneumophila, 150, 307
Leishmania, 663
 Lentivirus
 animales, sistemas de los, 605
 propiedades de los, 601
Leptospira, 332
 Leptospirosis, 332
 Lesión celular y enfermedad clínica, 390
 Leucocidinas, 153, 221
 Leucocito, 140
 Leucoencefalopatía multifocal progresiva, 578
 Leucopenia, 152
 Leucoplaquia pilosa bucal, 443
 Levaduras, 7, 621, 654
 infecciones por, 710

 y *Candida* interrelacionadas, 641
 Lincomicinas, 161, 184
 Linfocitos, 140
 T CD4, 608
 Linfogranuloma venéreo, 356, 752
 Linfoma de Burkitt, 443
 Lípidos, 315
 A, 29
 Lipooligosacáridos, 29, 152, 293
 Lipopolisacáridos, 26, 27, 152
 de bacterias gramnegativas, 152
 de la cubierta celular, síntesis de, 80
 efectos fisiopatológicos de, 152
 Lipoproteína, 25
 Líquido, 713
 cefalorraquídeo, 716
 Lisis, protección contra la, 59
 Lisozima, 29
Listeria, 209
 monocytogenes, 148, 150, 214
 Listeriosis perinatal humana, 214
 LOS (lipooligosacáridos), 152
 LPS (lipopolisacáridos), 152

M

Macroconidios, 654
 Macrófagos, 140, 608
 Macrólidos, 161
 Maduromicosis, 632
 Magnetosomas, 14
 Mal del pinto, 328
 Manchas de Koplik, 558
 Mapas
 de restricción, 109
 digestiones dobles en, 109
 digestiones sencillas, 109
 genéticos, 100
 Mapeo genético, 383
 Marcador, rescate de, 384
 Mastadenovirus, 417
Mastigophora, 659
 Mecanismos inmunitarios innatos, 118
 Medicamento, efecto de la concentración del, 55
 Médico y laboratorio, comunicación entre el, 701
 Medio(s)
 de cultivo, 66
 diferencial, 253
 selectivos, 253
 de huevo inspissado, 313
 diferencial, 67
 en caldo, 313
 Médula ósea, trasplante de, 762
 Meiosis, 97
 Melioidosis, 259
 Membrana
 celular, inhibición de las funciones de la, 160
 citoplásmica, 16
 disrupción de la, 58
 externa, 16, 26
 interna, 16
 permeabilidad y transporte, 16
 Meningitis, 248, 704, 722, 731
 aséptica, 488, 491
 neumocócica, 237
 Meningococos, 164
 Merodiploides, 100
 Meropenem, 182
 Mesófilas, 46
 Mesosomas, 13, 16
 Metabolismo
 en el crecimiento, función del, 69
 en la biosíntesis, función del, 69
 microbiano, 69-91
 productor de energía, 82
 vectorial, 84
 Metabolitos focales, 69
 interconversión de los, 71
 Metacercarias, 693
 Metales pesados, derivados de, 60
 Metapneumovirus, 546
 humano, infecciones por, 554
 Metisazona, 401
 Método(s)
 de cultivo, 66
 de Sanger, 109
 ópticos, 9
 Metronidazol, 189
 Micelio, 621, 654
 Micetismo, 648
 Micetoma, 632
 Micobacterias, 313-324
 atípicas, 313
 no cromógenas, 318
 saprofitas no relacionadas con enfermedad humana, 322
 Micología médica, 621-655
 Miconazol, 651
 Micoplasmas, 5, 43, 337
 Micosis, 621
 cutáneas, 625
 endémicas, 633
 invasora, 709
 oportunistas, 641, 647
 sistémicas dimórficas, 633
 subcutáneas, 629
 superficiales, 624
 Micotoxinas, 648
 Microbiología, 3
 ciencia de la, 3-8
 principios biológicos esclarecidos por la, 3
 Microconidios, 654
 Microfilamentos, 12
 Microfilarias, 691

- Microimmunofluorescencia, pruebas de, 352
- Microorganismos
- actividad metabólica de los. 166
 - aerobios, 5
 - aislamiento de un tipo particular de, 66
 - anaerobios, 5
 - clonales, 46
 - crecimiento, supervivencia y muerte de los, 51–60
 - cultivo de, 61–68
 - en cultivo puro, aislamiento de, 67
 - evolución de, 3
 - infecciosos, 46
 - localización de los. 167
 - patógenos, métodos sin cultivo para la identificación de, 47
 - quimiolitótrofos, 46, 62
 - selección natural, 3
 - semebrado en placa, 67
- Microscopia
- confocal, 10
 - de contraste de fase, 10
 - y tinción, 702
- Microscopio
- de luz, 9
 - electrónico, 9
 - de barrido, 9
 - de transmisión (MET), 9
 - observación directa con el, 372
- Microspora, 659
- Microsporidia, 684
- Microsporium*, 626, 710
- Microtricos, 693
- Microtúbulos, 12
- Mimetismo molecular, 492
- Minerales, fuentes de, 63
- Miocarditis, 492
- Mionecrosis, 205
- Miracidio, 692
- Mitocondrias, 11
- Mitosis, 97
- Mobiluncus*, 311
- Mohos, 7, 621, 654
- del cieno, 3, 7
- Moléculas
- de adhesión, 140
 - de reconocimiento del antígeno, 122
 - reporteras, 112
- Molusco contagioso, 459
- Monobactams, 181
- Monocitos, 140, 608
- Mononucleosis infecciosa, 443, 723
- Monosomas, 161
- Moraxella*, 262
- catarrhalis*, 262, 738
- Morbillivirus*, 546
- Mórula, 348
- Motilidad por deslizamiento, 261
- Mucor*, 710
- Mucormycosis*, 646
- Mucosas, 118
- Muerto, 260
- Muerte
- definición y medición de la, 54
 - medición de la, 54
 - significado de, 54
- Mutación(es), 95, 382
- de genes, 102
 - espontáneas, 102
 - por corrimiento del marco de lectura, 103
 - por error, 103
 - sin sentido, 103
- Mutagénesis dirigida a un sitio, 106, 110
- Mutágeno(s), 103
- físico, 103
 - químicos, 103
- Mutualismo, 3
- Mycobacterium*
- bovis*, 320
 - genavense*, 321
 - haemophilum*, 321
 - kansasii*, 321
 - leprae*, 322
 - malmoense*, 321
 - marinum*, 321
 - scrofulaceum*, 321
 - tuberculosis*, 147, 165, 313, 320
 - infección por, 752
 - infección primaria por, 755
 - ulcerans*, 321
- Mycoplasma*
- genitalium*, 337, 341
 - hominis*, 337, 340
 - infección por, 338
 - pneumoniae*, 337, 339, 737
- neumocócica, 147
- por *Legionella*, 119
- progresiva (maedi), 578
- viral, 735, 736
- Neuraminidasa, estructura y función de la, 535
- Nick translation, 112
- NIPAH, infecciones por virus, 560
- Nistatina, 651
- Nitrógeno
- asimilación del, 76
 - fijación del, 62, 76
 - fuentes de, 62
- No patógeno, definición de, 157
- Nocardia*
- abscessus*, 217
 - asteroides*, 217, 709
 - brasiliensis*, 217
 - farinaria*, 217
 - nova*, 217
 - otitidiscaviarum*, 217
- Nocardiosis, 217, 709
- Northern blot, 111
- Nosema*
- corneum*, 684
 - ocularum*, 684
- Núcleo, 10
- Nucleocápside, definición de, 363
- Nucleoide, 13
- Nucleoproteínas, 229
- Nucleósidos, análogos de, 399
- Nucleótidos, 93
- análogos de, 400
- Nutrición, 62
- Nutrientes, 63

O

- Oído medio, 717
- Oligonucleótidos, 708
- síntesis química de, 110
- Oligosacáridos derivados de la membrana, 29
- Oncogenes celulares, 592
- Oncogénesis por inserción del promotor, 592
- Oncosferas, 694
- Onicomycosis, 628, 642
- Operador *trp*, 105
- Operón, 105
- Opsonina, 141
- Opsonización, 132, 141
- Orbivirus, 504
- Órganos linfoides, 608
- Orientia*, 346
- Orina, 715
- cultivo de, 715
 - examen cuantitativo de, 715

- examen microscópico, 715
 recolección apropiada de la muestra, 715
- Ornitosis, 358
Orthomyxoviridae, 531
 Ortomixovirus, 368, 531–543
 propiedades de los, 531
 Ortopoxvirus, 450
 Osmófilos, 66
 Osteomielitis, 707, 747
 Oxaloacetato
 formación del, 74
 utilización del, 74
 Oxazolidinonas, 188
 Oxigenasas, 75
- P**
- Panencefalitis esclerosante subaguda, 558, 578
 Papilomavirus, 366, 594
 replicación de, 595
 Papovavirus, infecciones por, 724
Paracoccidioides brasiliensis, 640, 709
 Paracoccidioidina, 640
 Paracoccidioidomicosis, 638, 709
Paragonimus westermani, 693
 Parainfluenza, infección por virus de la, 548
 Parálisis infantil, 489
 Paramixovirus, 368
 adhesión, penetración y pérdida de la cubierta del, 546
 distinción de los, 531
 propiedades de los, 545
 replicación de los, 546
Paramyxoviridae, 545, 546
 Parapoxvirus, 451
 Parasitismo, 3
 Parasitología médica, 659
 Parásitos
 clasificación de los, 659
 intracelulares obligados, 551
 Parcialmente diploides, 100
 Pared celular, 12, 22, 351
 crecimiento de la, 30
 disrupción de la, 58
 enzimas que atacan la, 29
 grampositivas, componentes especiales de la, 24
 inhibición de la síntesis de la, 159
 Parotiditis, infección por virus de la, 554
 Parotitis, 723
 Partículas virales
 purificación de, 376
 tipos de simetría de las, 369
 Parvovirus, 366, 409–414
 infección por,
 durante el embarazo, 413
 en humanos, 410
 en pacientes inmunodeficientes, 412
 propiedades de los, 409
 replicación de, 409
Pasteurella, 285–289, 288
haemolytica, 288
multocida, 288
pneumotropica, 288
ureae, 288
 Patogenia viral, 389
 etapas de la, 389
 Patogenicidad, 157
 intracelular, 154
 Patógeno
 definición de, 157
 oportunista, 137, 147, 157
 PCR (reacción en cadena de la polimerasa), 432, 708
 acoplado a transcriptasa reversa, 710
Pediculus humanus
capitis, 346
corporis, 346
 Peliosis hepática, 310
 Penicilina(s), 172
 absorción, distribución y excreción, 178
 antipseudomonas, 712
 G, 178
 benzatínica, 178
 resistencia a la, 178
 Peplómeros, 363
 Peptidiltransferasa, 104
 Peptidoglucano, 22, 220
 capa de, 16, 22
 de bacterias grampositivas, 153
 de la pared celular, síntesis del, 77
Peptostreptococcus, 232
 Pérdida de la cubierta, 379
 Periodo de eclipse, 378
 Peritonitis, 740, 741
 Peroxisomas, 57, 60
 Peste, 766
 bubónica, 285
 pH, 377
 del ambiente, 165
Phialophora verrucosa, 631
 Picornavirus, 367, 372, 379, 483–498
 propiedades de los, 483
 replicación de los, 486
 Pie
 de atleta (tiña del pie), 628
 de Madura, 632
 Piedra, 625
 Piel, 118
 y mucosas, 491
 Pielonefritis, 746
 Pigmentos fotosintéticos, 13
 Pili, 34, 258
 estructura antigénica, 292
 Píocianina, 258
 Pioderma estreptocócico, 232
 Píomelanina, 258
 Píorrubina, 258
 Píoverdina, 258
 Pirazinamida, 191, 319, 755
 Piroplasmida, 659
 Pitiriasis versicolor, 624
 Placa fagocítica, 101
 Plásmidos, 5, 41, 93, 95, 100
 de resistencia a fármacos, 5
 quiméricos, 107
 recombinantes, 107
 Plasmidios, 7, 674
 Platelmitos, 659
 Pleroceroide, 694
 Plesiomonas, 268
 Pleurodinia, 492
Pneumocystis jiroveci, 646, 738
 Pneumovirus, 546
 Poliembriónismo, 692
 Polifosfato, 14
 Polímeros capsulares extracelulares, síntesis de, 80
 Polinixinas, 185
 Polimorfismo de la longitud de fragmentos de restricción (RFLP), 47, 111
 Poliomyovirus, 366, 593
 replicación de, 593
 Poliomieltis, 487
 abortiva, 488
 erradicación mundial, 489
 no paralítica, 488
 paralítica, 488
 Polisacáridos, 25, 315
 capsulares, 231, 276
 Polisomas, 161
 Porfiromonas, 302
 Porinas, 26
 Portador, 157
 Postulados de Koch, 145
 moleculares, 145
 Poxvirus, 366, 449–461, 598
 adhesión, penetración y pérdida de la cubierta del, 451
 infecciones en humanos, 453
 propiedades de los, 449
 replicación del, 451
 tanapox y yabapox, infecciones por, 459
 Presión osmótica, 66
Prevotella, 302
 Priones, 4, 369
 enfermedades por, 578
 Procariontes, 4
 clasificación de las, 6
 principal subdivisión entre, 6
 Procedimiento de escopetazo, 110
 Procercoide, 694
 Profago, 96

Profilaxis
 en la cirugía, 172
 en personas con susceptibilidad aumentada, 171
 en personas con susceptibilidad normal expuestas a un patógeno específico, 171
 Promotor, 105
 Propionibacterias, 303
Propionibacterium, 209, 213
acnes, 213
 Prostaglandinas, 135
 Proteasa
 IgA1, 153, 295
 inhibidores de, 400
 Proteína(s), 315
 A, 220
 activadora, 105
 asociadas con opacidad (Opa), 150
 de la cápsida, 595
 de patogenicidad, 19
 de unión,
 a hierro, 295
 a penicilinas (PBP), 160
 del prion (PrPc), 4
 desnaturalización de las, 58
 Fbp, 295
 fijadoras, 16
 de penicilina (PFP), 78
 del monofosfato de adenosina cíclico (CAP), 105
 II, 293
 inhibición de la síntesis de, 161
 Lip (H8), 295
 M, 229
 OmpA, 27
 Opa, 293
 Por, 292
 principal de la membrana externa (MOMP), 47, 351
 R, 229
 represora, 105
 Rmp, 293
 virales, 372
 síntesis de, 451
Proteus, 249
 Morganella-Providencia, 245, 248
 Protistas, 6, 7
 propiedades morfológicas, 7
 Protones, transporte quimiosmótico impulsado por, 17
 Protoplastos, 29, 30, 159, 341
 Protozoarios, 3, 7, 610, 659
 Providencia, 249
 Pruebas
 con anticuerpos,
 fluorescentes para *treponema*, 327
 treponémicos, 327
 con antígenos no treponémicos, 327
 cutáneas de tuberculina, 755

de aglutinación de partículas para
Treponema pallidum, 328
 de detección de antígeno, 440
 de fijación del complemento, 721
 de susceptibilidad, 223
 cultivo, identificación y, 318
 mediante difusión en disco, 712
 de tumefacción de la cápsula, 237
 diagnósticas inmunológicas, 137
 directas con anticuerpos fluorescentes (AF), 279
 serológicas para sífilis (PSS), 327
Pseudomonas, 257
 aeruginosa, 100, 257, 737
 oxidasa-positiva, 258
 putida, 100
 Psitacosis, 358
 Puerta de entrada, barreras fisiológicas en la, 118

Q

Queratoconjuntivitis, 431
 Querión, 628
 Quimiocinas, 120, 141
 Quimioprofilaxis
 antiestreptocócica para ataque de fiebre reumática, 235
 antimicrobiana, 170
 Quimiostato, 54
 Quimiotaxia, 19, 33, 120, 132, 141
 Quimioterapia
 antimicótica, 648
 antimicrobiana, 159-192
 antiviral, 399
 Quinolonas, 186
 Quistes, 671
 hidatídicos, 694

R

Rabdo virus, 368
 Rabia, 571
 antígenos o ácidos nucleicos del virus de la, 574
 fisiopatología de la prevención de la, mediante vacuna, 575
 tipos de anticuerpos a la, 576
 Radiación, 59, 377
 Reacción
 anafaláctica, tratamiento y prevención de, 135
 bioquímica, 231
 de Arthus, 136
 en cadena de la polimerasa (PCR), 93, 110, 319, 432, 440, 708
 en cadena de ligasa (LCR), 711
 inmunitaria virus-huésped, 474
 quellung, 236
 tricotifida, 628
 Reactivación
 genética, 384
 múltiple, 384
 no genética, 451
 Receptor(es)
 de células,
 B para antígenos, 126
 T para antígeno, 126
 de superficie celular para antígenos, 126
 Recombinación
 genética, 384
 homóloga, 99
 no homóloga, 99
 Recombinasas, 126
 Redias, 692
 Región(es)
 constantes, 124
 de bisagra, 124
 variables, 124
 Reinfección interna, 691
 Reordenamiento genético, 532
Reoviridae, 510
 Reovirus, 367, 379, 499, 504
 propiedades de los, 499
 replicación de los, 500
 Replicación, 97
 fagocítica, ligación en la, 98
 horquilla de, 97
 semiconservadora, 97
 viral, etapas generales en los ciclos, 378
 Replicones, 95
 Represión catabólica, 19
 Resistencia
 cromosómica, 163
 cruzada, 163
 extracromosómica, 163
 Resolución, poder de, 9
 Respiración, 62
 anaeróbica, 87
 patrones de, 86
 Respirovirus, 546
 Respuesta
 adquirida, 121
 inflamatoria, 118, 120
 inmunitaria, 141
 alteración de la, 168
 bases celulares de la, 122
 del huésped, 392
 primaria, 129
 SOS, 102
 Retículo endoplásmico, 10
Retroviridae, 601

- Retrovirus, 98, 368, 585
 contenido genético, 588
 exógenos o endógenos, 586
 huésped de origen, 586
 humanos, 591
 potencial oncogénico, 588
 replicación de los, 588
- Reversión fenotípica, 103
- Rhinocladia aquaspersa*, 631
- Rhizopus*, 710
- Rhodococcus equi*, 213
- Ribotipificación, 47
- Ribozimas, 94
- Rickettsia, 5, 343-350
 propiedades de la, 343
protektii, 346
rickettsii, 346
tsutsugamushi, 346
typhi, 346
- Rickettsiosis pustulosa, 347
- Rifabutina, 190
- Rifampicina, 190, 319, 755
- Rimantadina, 400
- Rinovirus, 483, 495
- RNA
 de transferencia (tRNA), 94
 de VIH-1, detección del, 728
 estructura del, 93
 mensajero (mRNA), 94
 ribosomal (rRNA), 94
 ribosomal 16S, identificación de bacterias utilizando el, 708
 transcripción, traducción y replicación del, 546
 viral, replicación del, 537
- Roedores
 fiebre hemorrágica transmitida por, 524
 infecciones virales transmitidas por, 509-530
- Roséola infantil, 428, 444
- Rotavirus, 499, 500
- Rothia dentocariosa*, 213
- Rubéola
 congénita, síndrome de la, 562
 infecciones por virus de la, 560
 posnatal, 560
- Rubulavirus, 546
- S**
-
- Salmonela, 165, 246
 cultivos enriquecidos para, 253
 métodos bacteriológicos para aislamiento de, 253
- Salmonella*, 147
arizona, 251
 enfermedades por, 247
- Salpingitis, 750
- Sangre, 713
- Sarampión
 alemán, 560
 infecciones por virus del, 556
- Sarcocystis*, 680
- Sarcodina, 659
- Sarcoma de Kaposi, 610
- Sarcoquistes, 681
- Scrapie*, 4, 579
- Secreciones respiratorias, 716
- Secuencia
 de empaquetamiento, 369
 líder, 20
 señal, 20
- Selección clonal, 122
- Sensibilización quórum, 5
- Septa, 621, 654
- Septicemia, 232, 248
- Séptico, definición de, 56
- Serratia, 249
- Seudohifas, 622, 641, 654
- Seudotipo, formación de, 384
- Shigela, 246
- Shigella*, 250
 enfermedades por, 247
- Sialitranferasa, 29
- SIDA, 724
 educación para la salud, 615
 en pediatría, 609
 medidas de control, 615
 origen del, 604
 propagación del, en el mundo, 612
 vías de transmisión del, 613
 y lentivirus, 601
- Sífilis, 325, 719, 752
 adquirida, 326
 congénita, 327, 328
 del conejo, 329
 enfermedades relacionadas con, 328
 meningovascular, 327
- Signo de rebote positivo, 741
- Simbiosis, 3
- Simptome, 17
- Síndrome
 de choque por dengue, 521
 de choque tóxico, 151, 221
 estreptocócico, 230, 233
 de fatiga crónica, 492
 de insuficiencia adquirida, 724
 de la rubéola congénita, 562
 de Reye, 539
 del edificio enfermo, 647
 pulmonar por hantavirus, 513, 524
 urémico hemolítico, 706
- Sinergismo antimicrobiano, 170
- Sistema(s)
 de amplificación,
 de sondas, 711
 del blanco, 708
 nervioso central, 719, 731
- nitrogenasa, 76
 reticuloendotelial, 119
- Sitio de adhesión viral, 535
- Sodio, transporte quimiosmótico impulsado por, 17
- Sondas químicas, 106
- Soplo cardíaco, 740
- Southern blot*, 47, 111
- SPH (síndrome pulmonar por hantavirus), 524
- Spirillum*
minor, 335
morsus muris, 335
- Sporothrix schenckii*, 629, 709
- Sporozoa*, 659
- Staphylococcus*
aureus, 219, 737
epidermidis, 219
saprophyticus, 219
- Stenotrophomonas maltophilia*, 260
- Streptobacillus moniliformis*, 311
- Streptococcus*
agalactiae, 231
anginosus, 231
bovis, 231
pneumoniae, 25, 164, 231, 236, 737
pyogenes, 25, 231, 232
 β hemolítico del grupo A y sus subproductos, 232
- Strongyloides stercoralis*, 691
- Subclonas, 109
- Subunidad, definición de, 363
- Suero antirrábico equino, 576
- Sulfhidrilo libres, eliminación de los grupos, 58
- Sulfonamidas, 188
- Superantígeno, 129, 221
- Superenrollamiento, 93
- Supresores sin sentido, 103
- Sustancia(s)
 específica de grupo, 230
 P, 229
 T, 229
- Sustrato. fosforilación del, 61, 74, 82
 estrategias para la, 84
- T**
-
- Tamaño molecular, 122
- Tanapox, infecciones por poxvirus, 459
- Taquizoitos, 682
- Taxia hacia aceptores de electrones, 33
- Taxonomía numérica, 42
- Técnica
 de amplificación de señal, 711
 de Maxam-Gilbert, 109
 de Ziehl-Neelsen, 313
- Teicoplanina, 184

Tejido(s)
alteración de la respuesta en los, 168
blando, hueso y, 747
huéspedes, 149
infección de, 713
pulmonar, consolidación del, 736

Telómeros, 97

Temperatura, 64

Terapéutica antimicrobiana, auxiliares de laboratorio para seleccionar la, 712

Terapia

antirretroviral altamente activa (TARAA), 756
génica, 419

Terbinafina, 651

Tetanos, 202, 204

Tetraciclina, 161, 182

Tifo

de los matorrales, 345, 347
endémico (murino), 345, 347
epidémico, 345, 347

Tifoidea, 705

Tilacoides, 14

Timocitos, 141

Tinción(es), 37

ácidas, 37
acidorresistente, 38
básicas, 37
con anticuerpos inmunofluorescentes (IF), 703
de Gram, 6, 37
de la cápsula, 38
de las esporas, 38
de los flagelos, 38
del núcleo, 38
microscopia y, 702
negativa, 38
propiedades de, 352

Tinea

barbae, 627, 628
capitis, 627, 628, 629
corporis, 627, 628, 629
cruris, 627, 628
manus, 628
pedis, 627, 628, 629
unguium, 627, 628, 629

Tiña

de la barba, 628
de la cabeza, 628
de la ingle, 628
de las manos, 628
de las uñas, 628
del cuerpo, 628
negra, 625

Tiosulfato-citrato-bilis-sucrosa (TCBS), 265

Tobramicina, 186

Togaviridae, 510

Togavirus, 367

clasificación y propiedades de, 512

encefalitis por, 512

propiedades antigénicas de, 513

replicación de, 513

Tórax, 735

Tos ferina, 705

Toxicidad selectiva, 159

Toxigenicidad, 157

Toxina(s), 151, 250

α , 151

1 del síndrome de choque tóxico, 151, 221

adenilicilasa, 278

botulínica, 203

del síndrome de choque tóxico, 221

dermonecrosante, 278

difétrica, 151, 211

edema, 200

enzimas y, 221, 229, 247

eritrógenas, 230

exfoliativas, 221

letal, 200

pertussis, 278

Toxoide, 151

líquido, 212

Toxoplasma gondii, 682

Tracoma, 354

Tracto urinario, 742

infección complicada del, 746

Traducción, 104

Transaminación, 76

Transcapsidación, 384

Transcripción, 103

Transcriptasa inversa, inhibidor no nucleósido de, 400

Transducción, 99, 101

sensorial, 33

Transferencia génica mediada por virus en células de mamíferos, 385

Translocación de grupo, 18

Transmisión sexual, enfermedades de, 749

Transporte

de electrones, 19
dependiente de unión a proteínas, 16
quimiosmótico, 17
sistemas de, 16

Transposones, 96, 97

Trasplante

de hígado, 759
de médula ósea, 762

Trematoda, 659

Trematodos, 691

Treponema, 325

pallidum, 325

Tricofitina, 626

Trichomonas, 661

vaginalis, 751

Trichophyton, 710

Trimetoprim, 188

sulfametoxazol (TMP-SMZ), resistencia a, 241

Trimetrexato, 189

Tripanosoma, 665

Tripanosomiasis

africana, 668

americana, 668

Trismus, 204

Trofozoitos, 670

Tromboxanos, 135

Tropismo celular, propagación viral y, 390

TSST-1 (toxina-1 del síndrome de choque tóxico), 151

Tuberculina

dosis de, 317

prueba de, 317

interpretación de la, 317

reacciones a la, 317

Tuberculosis

extrapulmonar, 755

miliar diseminada, 753

pulmonar, 752

Tularemia, 282

U

Úlceras

de la piel, 704

genitales, 706, 707, 751

Ultracentrífuga, sedimentación en la, 372

Unidad(es)

estructurales, definición de, 363
formadora de placa (UFP), 375

Unión de efectores específicos, 71

Unipote, 17

Ureaplasma urealyticum, 337, 340

Uretra, flora microbiana normal de la, 196

Uretritis, 355, 706, 749

gonocócica, 749

no gonocócica, 355, 749

V

Vaccinia, 453

comparación de los virus, y de la viruela, 453

necrosum, 456

vacunación con el virus, 456

Vacuna(s)

actuales, uso apropiado de, 405
adsorbida contra la rabia (VAR), 575

con virus vivo,

atenuado, 404

intentos para desarrollar, 542

- conjugadas *Haemophilus b*, 277
 contra el VIH, 614
 de células diploides humanas (VCDH), 575
 de embrión de pato, 575
 de tejido nervioso, 575
 de virus muertos, 403
 fetal, 457
 preparación de, con virus inactivado, 542
 progresiva, 456
 purificada de células de embriones de pollo, 575
 virales, 402
- Vacunación, 141
 con el virus vaccinia, 456
 prevención y control con, 541
- Vagina, flora microbiana normal de la, 196
- Vaginitis, 719, 750, 751
 por bacterias, 311
- Vaginitis, 750
- Válvula cardíaca, vegetaciones de la, 740
- Vancomicina, 184
 cocos resistentes a la, 241
 cocos susceptibles a la, 241
 fenotipos de resistencia a la, 239
 resistencia a la, 239
- Variación antigénica, 34
- Varicela, 434
 zoster, virus de la, 428, 433
- Variedades serológicas, 352
- VEB (virus Epstein-Barr), 441
- Vectores recombinantes, 106
- Verruga peruana, 309
- Vesículas de gas, 14
- Vía(s)
 biosintéticas, 77
 de asimilación, 74
 de Embden-Meyerhof, 84
 fermentaciones microbianas basadas en la, 88
 de fermentación, 84
 metabólicas, regulación de las, 89
 reductivas, 75
 respiratorias inferiores, 717
- Vibrio*
cholerae, 147, 148, 265
 enterotoxina de, 266
parahaemolyticus, 268
vulnificus, 268
- Vibriones, 265
- VIH (virus de inmunodeficiencia humana), 727
 análisis para detectar directamente infección por, 728
 enfermedad neurológica relacionada con, 609
 infección por,
 aspectos generales del curso de la, 606
- en humanos, 606
 vacunas contra el, 614
- VIH-1
 cultivo de, 728
 y SIDA, 755
- Viremia, 390
- Virión, definición de, 363
- Viroides, 4, 369
- Viruela, 453
 bovina, infecciones por, 457
 brote de, 766
 control y erradicación de la, 453
 de búfalo, infecciones por, 457
 de mono, infecciones por, 457
 patogenia y patología de la, 453
- Virulencia, 157
 bacteriana, factores de la, 148
 regulación de, 148
 regulación de las determinantes de, 222
- Virus, 3, 610
 adhesión, penetración y pérdida de la envoltura de, 417
 aislados de campo, 382
 animales, genética de los, 381
 B, 445
 B19, 409
 clasificación de los, 364
 cómo comprobar que causa cáncer en humanos, 599
 composición química de los, 372
 cuantificación de los, 375
 cultivo y análisis de los, 373
 de Guanarito, 526
 de la hepatitis, 463-482
 de la influenza, 531-543
 de Marburg, 528
 de Sabia, 526
 de tipo nativo, 382
 de varicela zoster, 433
 defectuoso, 363, 378, 383
 detección de células infectadas por, 374
 ecotrópicos, 588
 envoltura lipídica de los, 373
 Epstein-Barr, 428, 441
 infección primaria por, 442
 infecciones experimentales en animales, 442
 estabilización de los, mediante sales, 377
 historia natural (ecología) y modos de transmisión de los, 385
 -huésped, reacciones inmunitarias, 474
 interacciones entre, 383
 lentos, infecciones con, 578
 medición del tamaño de los, 372
 métodos comunes para inactivar, con diferentes, 378
 mutantes, tipos de, 383
- Norwalk, 505
 oncogénicos humanos, 583-600
 mecanismos de acción de, 585
 orf, infecciones por, 457
 origen evolutivo de los, 363
 patógeno, 389
 persistencia del, 394
 principios de la estructura de los, 369
 propagación del, 392
 propiedades generales de los, 363-387
 purificación e identificación de los, 376
 que contienen DNA, estudio de, 366
 que contienen RNA, estudio de, 367
 replicación de los, 378
 seguridad en el laboratorio, 376
 sincicial respiratorio, infecciones por, 552
 sistema universal de taxonomía de los, 364
 tumorales,
 con DNA, 592
 con el huésped, interacciones de, 584
 tipos diversos de, 583
 visna, 604
 vivos atenuados, 575
 xenotrópicos, 588
- Visna, 578
- Vittaforma corneae*, 684
- Vulvovaginitis, 642
 candidiásica, 751

W

Western blot, 111, 332, 708, 727

Y

Yabapox, infecciones por poxvirus, 459
Yersinia, 285-289
enterocolitica, 148, 287
pestis, 147, 285
pseudotuberculosis, 287

Z

Zoster, 434, 435